



**Institut für Hygiene und Umwelt**

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittelsicherheit,  
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen



Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

*Hamburg University of Applied Sciences*

**Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg**

**Fakultät Life Sciences**

# Fischei-Sedimentkontakttest mit sauerstoffzehrenden Sedimenten

---

Bachelorarbeit im Studiengang Umwelttechnik

zur Erlangung des akademischen Grades

Bachelor of Science (B.Sc.)

vorgelegt von

**Silke Ströning**

**Matrikelnummer: 1985394**

Hamburg

am 09. Dezember 2013

**Gutachter:**  
**Gutachter:**

Prof. Dr. Carolin Floeter (HAW Hamburg)

Dr. Beate Baier (Institut für Hygiene und Umwelt, Hamburg)

Die vorliegende Bachelorarbeit wurde am Institut für Hygiene und Umwelt der Freien und Hansestadt Hamburg erstellt.

Institut für Hygiene und Umwelt  
Bereich Umweltuntersuchungen  
Abteilung Wasseruntersuchungen  
Referat Biologische Untersuchungen  
Marckmannstraße 129 b  
20539 Hamburg



## Erklärung zur Bachelorarbeit

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Hamburg, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

(Unterschrift)

Silke Ströning

## Zusammenfassung

Die untersuchten Hamburger Sedimente aus der Elbe haben einen hohen organischen Anteil, was zu einer starken Sauerstoffzehrung im Überstandswasser des Fischei-Sedimentkontakttests führt. Für eine eindeutige Abgrenzung toxischer Effekte von Schädigungen der Fischembryonen aufgrund mangelnder Sauerstoffversorgung ist aber die Aufrechterhaltung eines Sauerstoffgehalts von mindestens 4 mg/L O<sub>2</sub> während der Testphase notwendig. Das entscheidende Ziel der vorliegenden Untersuchungen bestand darin, die Sauerstoffversorgung von Embryonen des Zebraäbblings (*Danio rerio*) im Fischei-Sedimentkontakttest sicherzustellen. Dazu wurde zunächst untersucht, wie sich die Sauerstoffkonzentration im Überstandswasser über den untersuchten stark zehrenden Elbe-Schwebstoffen über die Testdauer von 48 Stunden ohne Schüttler entwickelt. Dabei führte der Schwebstoff von der Probenahmestelle Seemannshöft generell zu einer geringeren Zehrung als der Schwebstoff aus der Probenahmestelle Bunthaus, auch wenn die Schwebstoffproben aus den verschiedenen Monaten ein unterschiedliches Zehrungspotential aufwiesen. Bei den Proben aus Bunthaus wurden dabei stets nur noch Sauerstoffkonzentrationen unter 1 mg/L im Überstandswasser festgestellt.

Eine Verbesserung der Sauerstoffversorgung der Fischembryonen während der Testphase wäre durch verschiedene Modifikationen der Versuchsbedingungen möglich: Durch die Erhöhung der Schüttelfrequenz, durch die Vorinkubation des Schwebstoff-Überstandswasser-Gemisches, durch größere Testgefäße mit einer größeren Oberfläche und mit einer zusätzlichen Belüftung. Versuche mit Quarzsand bei verschiedenen Schüttelfrequenzen ergaben, dass maximal mit einer Schüttelfrequenz von 80 rpm gearbeitet werden kann, da mit einer höheren Frequenz letale Effekte auf die Embryonalentwicklung durch das Schütteln verursacht werden.

Bei den Schwebstoffen aus Bunthaus konnte mit der Erhöhung der Schüttelfrequenz der Sauerstoffgehalt nur bei den im März genommenen Proben deutlich verbessert werden. Er lag jedoch trotz Schüttelns bei einer Frequenz von 80 rpm über 48 Stunden knapp unter 4 mg/L O<sub>2</sub>. Die Sauerstoffkonzentrationen im Überstandswasser über den Schwebstoffen aus Seemannshöft konnten durch die Erhöhung der Schüttelfrequenz auf Werte über 4 mg/l verbessert werden. Eine zusätzliche Vorinkubation des Schwebstoff-Überstandswasser-Gemisches vor dem eigentlichen Testbeginn über 24 Stunden führte bei keiner der untersuchten Schwebstoffproben aus der Elbe zu einer weiteren Verbesserung des Sauerstoffgehaltes.

Die abschließend durchgeführten Toxizitätstests zeigten, dass die untersuchten Schwebstoffe aus Seemannshöft eindeutig als toxisch gegenüber Fischeiern einzustufen sind. Die Schwebstoffe aus Bunthaus führten ebenfalls zu einer hohen Mortalität der Testorganismen, die Toxizität konnte hier aber nicht eindeutig von den Effekten durch Sauerstoffmangel abgegrenzt werden.

## Abstract

The examined sediments from the river Elbe in Hamburg have a highly organic content, which leads to a strong oxygen consumption in the supernatant water of the fish egg-sediment-contact test. To have a clear distinction between toxic effects and any damage of the fish embryos caused by a lack of oxygen supply, it is necessary to maintain an oxygen content of at least 4 mg/L O<sub>2</sub> during the test phase. The major focus of this study was to guarantee the oxygen supply of embryos of the zebrafish (*Danio rerio*) while conducting the sediment contact test. For this purpose the oxygen concentration in the supernatant water was examined to see how the consumptive suspended sediments developed during a period of 48 hours without shaking. Thereby the suspended sediments from the sampling station Seemannshöft resulted generally in a lower consumption than the suspended sediments from the sampling station Bunthaus, although the suspended sediments from different months differed in their depletion potential. As shown with Bunthaus' samples oxygen concentrations were detected below 1 mg/L in the supernatant water.

The fish embryos' oxygen supply could be optimised during the test phase with various modifications of the test conditions: With the increase of the shaking frequency, with the preincubation of the supernatant water, with the suspended sediments (24 hours before starting the test), with test-vessels with a larger surface and an additional ventilation with oxygen.

Experiments with quartz sand at different shaking frequencies resulted in the implementation of a maximum of 80 rpm as shaking-frequency. Higher shaking-frequencies caused lethal effects on embryonic development.

For the suspended sediments from Bunthaus the increase of the shaking-frequency significantly improved the oxygen content only in the samples of March; however the content still lay slightly below 4 mg/L O<sub>2</sub>. The concentrations in the supernatant water above the suspended sediments from Seemannshöft could be improved to values above 4 mg/L. An additional preincubation of the supernatant water with the suspended sediments for 24 hours before the start of the test did not improve the oxygen content in the investigated suspended sediments from the Elbe.

The final toxic analysis clearly classified the examined suspended sediments from Seemannshöft as harmful to fish eggs. The suspended sediments from Bunthaus also led to a high mortality of the test organisms, but the toxicity could not be dissociated from the effects caused by lack of oxygen.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Beate Baier, die mich im Praxissemester am Institut für Hygiene und Umwelt der Freien und Hansestadt Hamburg und während meiner Bachelorarbeit außerordentlich gut betreut hat. An dieser Stelle möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit, ihre konstruktiven Fragen und ihre Diskussionsbereitschaft bedanken.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau Dr. Carolin Floeter, die mich seitens der Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg betreut hat, für ihre herausragende Kompetenz und ansteckende Begeisterung.

Außerdem gilt ein großer Dank auch allen Mitarbeitern des Instituts, bei denen ich mich von Beginn an menschlich und fachlich wohl und willkommen gefühlt habe.

Ebenso möchte ich meinen Eltern danken, für ihren Rückhalt und ihre Unterstützung und dafür, dass sie immer für mich da sind. Auch bei meinen Geschwistern und Freunden bedanke ich mich für die wertvolle Unterstützung.

# Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis .....	III
Tabellenverzeichnis .....	V
Abkürzungs- und Symbolverzeichnis .....	VII
1. Einleitung .....	1
1.1 Stand der Wissenschaft .....	4
1.1.1 Gesetzliche Grundlagen zum Fischei-Sedimentkontakttest .....	4
1.1.2 Aktuelle Forschungsgebiete mit dem Zebraabärbling .....	4
1.2 Stand der Entwicklung des Fischei-Sedimentkontakttests und Fragestellung .....	5
2. Material und Methoden .....	8
2.1 Der Zebraabärbling – <i>Danio rerio</i> .....	8
2.1.1 Hälterung und Eiproduktion .....	10
2.1.2 Embryonalentwicklung .....	11
2.1.3 Sauerstoffbedarf des Zebraabärblings .....	14
2.2 Sauerstoffzehrung von Sedimenten .....	16
2.3 Sauerstoffsonde .....	17
2.4 Probenahmestellen und Probenahme .....	19
2.4.1 Schwebstoffe aus der Messstation Seemannshöft .....	19
2.4.2 Schwebstoffe aus der Messstation Bunthaus .....	20
2.4.3 Probenahme .....	21
2.4.4 Schwebstoff-Proben während des Hochwassers im Juni 2013 .....	21
2.5 Probenaufbereitung von Schwebstoff- und Sedimentproben .....	22
2.5.1 Chemische und physikalische Eigenschaften der Schwebstoffe .....	22
2.6 Chemikalien und Geräte .....	24
2.7 Ansetzen, Lagerung und Handhabung der Standardlösungen und Reagenzien .....	25
2.8 Fischei-Sedimentkontakttest .....	26
2.9 Versuchsdurchführung .....	31
2.9.1 Einfluss der Schüttelfrequenz auf die Fischembryonen .....	31
2.9.2 Kontinuierliche Sauerstoffmessungen .....	31
2.9.3 Erhöhung der Schüttelfrequenz zur Verbesserung der Sauerstoffkonzentration .....	32
2.9.3.1 Sauerstoffmessung bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm .....	32
2.9.4 Vorinkubation zur Verbesserung der Sauerstoffkonzentration .....	33
2.9.5 Versuche zur Toxizität der Schwebstoffe .....	34
3. Ergebnisse und Auswertung .....	35
3.1 Chemische und physikalische Eigenschaften der Schwebstoffe .....	35

3.1.1 Bestimmung des Trockenrückstandes und der Verdünnungswasser-Zugabe der Mai-Schwebstoffe.....	35
3.1.2 Analytikdaten .....	36
3.2 Einfluss der Schüttelfrequenz auf die Fischembryonen .....	38
3.2.1 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 60 rpm .....	38
3.2.2 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 70 rpm .....	38
3.2.3 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm .....	38
3.2.4 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 90 rpm .....	38
3.2.5 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 100 rpm.....	39
3.2.6 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 110 rpm.....	39
3.2.7 Vergleich des Einflusses unterschiedlicher Schüttelfrequenzen auf die Embryonalentwicklung.....	40
3.3 Kontinuierliche Sauerstoffmessung .....	41
3.4 Sauerstoffmessung bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm.....	42
3.4.1 Entwicklung während der ersten 8 Stunden .....	42
3.4.2 Entwicklung während 48 Stunden.....	43
3.5 Vorinkubation zur Verbesserung der Sauerstoffkonzentration .....	45
3.5.1 Schwebstoffe der Messstation Bunthaus .....	45
3.5.2 Schwebstoffe der Messstation Seemannshöft .....	46
3.5.3 Hochwasser Schwebstoffe .....	47
3.6 Versuche zur Toxizität der Schwebstoffe .....	48
3.6.1 Schwebstoffe aus der Messstation Bunthaus.....	48
3.6.2 Schwebstoffe aus der Messstation Seemannshöft.....	50
3.6.3 Hochwasser Schwebstoffe .....	52
4. Diskussion .....	53
Literaturverzeichnis .....	60
Anhang.....	68

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1 Weiblicher (links) und männlicher Zebrabärbling (rechts).....	8
Abbildung 2.2 Zygote, 1-Zell-Stadium .....	11
Abbildung 2.3 Entwicklung des Zebrabärblings .....	12
Abbildung 2.4 Entwicklung des Zebrabärblings .....	12
Abbildung 2.5 Entwicklung des Zebrabärblings .....	13
Abbildung 2.6 Flat-brokensensortip .....	17
Abbildung 2.7 Sauerstoffsensormit Glasfaser .....	18
Abbildung 2.8 Schematischer Aufbau des Mikrosensors TX 3.....	18
Abbildung 2.9 Probenahmestelle Seemannshöft.....	19
Abbildung 2.10 Sedimentationsbecken .....	19
Abbildung 2.11 Probenahmestelle Bunthaus .....	20
Abbildung 2.12 Messstation Bunthaus .....	20
Abbildung 2.13 24 – Well Platte zur Auswertung der Fischeier unter dem Mikroskop .....	27
Abbildung 2.14 Schematischer Aufbau eines Fischembryos und Embryo nach 48 Stunden .....	28
Abbildung 2.15 Koagulierter Keim.....	28
Abbildung 2.16 Deformierter Embryo .....	29
Abbildung 2.17 Embryo mit Herzödem (Pfeil) .....	30
Abbildung 2.18 Embryo ohne pigmentierte Augen und mit einem verdicktem Schwanz.....	30
Abbildung 2.19 Temperatur- und Sauerstoffmessung im Überstandswasser des Schwebstoffs Bunthaus aus dem Monat März .....	31
Abbildung 2.20 Sauerstoffsonde (rechts) bei der Messung über dem Schwebstoff Seemannshöft aus dem Monat März .....	32
Abbildung 2.21 Schalen mit Kontrollen und der Schwebstoffprobe April aus Seemannshöft auf dem Horizontalschüttler bei 80 rpm .....	33
Abbildung 3.1 TOC-Gehalt in den Schwebstoffen Seemannshöft und Bunthaus aus Monatsproben 2012 .....	36
Abbildung 3.2 TOC-Gehalt im Schwebstoff des Hochwassers bei Seemannshöft zwischen dem 04.06. und 01.07.2013.....	36
Abbildung 3.3 Letale Effekte der Schüttelfrequenzen bei den Negativ-Quarzsandkontrollen auf die Fischembryonen bei unterschiedlichen Frequenzen. N ist die Anzahl der ausgewerteten Fischeier.....	40
Abbildung 3.4 Kontinuierliche Sauerstoffmessung (sekündlich) in der Wasserphase direkt über den Schwebstoffen aus Bunthaus (BU) und Seemannshöft (SH) vom März 2013 über einen Zeitraum 48 Stunden bei 26°C .....	41

Abbildung 3.5 Sauerstoffkonzentration bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm über den März-Schwebstoffen aus Seemannshöft (SH) und Bunthaus (BU) innerhalb der ersten 8 Stunden bei 26 °C .....	42
Abbildung 3.6 Gemessene Sauerstoffkonzentration im Überstandswasser bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm über den März- und April-Schwebstoffen aus Bunthaus (BU) über 48 Stunden bei 26 °C .....	43
Abbildung 3.7 Gemessene Sauerstoffkonzentration im Überstandswasser bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm über den März- und April-Schwebstoffen aus Seemannshöft (SH) über 48 Stunden bei 26 °C .....	44
Abbildung 3.8 Koagulierte Fischeier der Schwebstoffprobe aus Bunthaus des Monats April.....	49
Abbildung 3.9 Embryo mit letalen Effekten aus der Schwebstoffprobe Seemannshöft Mai .....	51
Abbildung 3.10 Koaguliertes Fischei aus der Hochwasserprobe des 13.6. ....	52

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1 Einwaage Trockenrückstand Schwebstoffe Seemannshöft und Bunthaus aus dem Monat Mai .....	35
Tabelle 3.2 Bestimmung Zugabe von Verdünnungswasser zum Schwebstoff Mai .....	35
Tabelle 3.3 Auswahl der Analytikdaten der Spurenelemente aus Bunthaus (BU) und Seemannshöft (SH) jeweils Schwebstoffe aus der Monatsprobe März und April .....	37
Tabelle 3.4 Bunthauschwebstoffe von März nach 24 h Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C .....	45
Tabelle 3.5 Bunthauschwebstoffe von April nach 24 h Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C .....	45
Tabelle 3.6 Bunthauschwebstoffe von Mai nach 24 h Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C .....	45
Tabelle 3.7 Seemannshöftschwebstoffe von März nach 24 h Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C .....	46
Tabelle 3.8 Seemannshöftschwebstoffe von April nach 24 h Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C .....	46
Tabelle 3.9 Seemannshöftschwebstoffe von Mai nach 24 h Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C .....	46
Tabelle 3.10 Schwebstoffe des Hochwassers vom 11.6. nach 24 h Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C .....	47
Tabelle 3.11 Schwebstoffe des Hochwassers vom 13.6. nach 24 h Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C .....	47
Tabelle 3.12 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Bunthaus aus dem Monat März bei 80 rpm und 26 °C .....	48
Tabelle 3.13 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Bunthaus aus dem Monat April bei 80 rpm und 26 °C .....	48
Tabelle 3.14 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Bunthaus aus dem Monat Mai bei 80 rpm und 26 °C .....	48
Tabelle 3.15 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Seemannshöft aus dem Monat März bei 80 rpm und 26 °C .....	50
Tabelle 3.16 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Seemannshöft aus dem Monat April bei 80 rpm und 26 °C .....	50
Tabelle 3.17 S Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Seemannshöft aus dem Monat Mai bei 80 rpm und 26 °C .....	51
Tabelle 3.18 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen des Hochwassers am 11.6. bei 80 rpm und 26 °C .....	52

Tabelle 3.19 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen des Hochwassers am 13.6. bei 80 rpm und  
26 °C ..... 52

## Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

AOX	Adsorbierbare organisch gebundene Halogene
BG	Bestimmungsgrenze
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BOD	Biochemical Oxygen Demand
BSOD	Biological Sediment Oxygen Demand
CSOD	Chemical Sediment Oxygen Demand
DCA	3,4-Dichloranilin
EU	Europäische Union
FGG	Flussgebietsgemeinschaft Elbe
geschl.	geschlüpft
GW	Grenzwert
H	kein Herzschlag
HU	Hamburger Institut für Hygiene und Umwelt
HGW	Hintergrundwert
IKSE	Internationale Kommission zum Schutz der Elbe
K	koagulierter Keim
LC	letale Konzentration
LDO	Lumineszenz Dissolved Oxygen
N	normal entwickelter Keim
N	Anzahl Proben
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
OGewV	Oberflächengewässerverordnung
OSPARCOM	Oslo-Paris Kommission
PE	Polyethylen
REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemical Substances
rpm	rounds per minute
S	keine Schwanzablösung
SOD	Sediment Oxygen Demans
SOF	Sediment Oxygen Flux
SOP	Standard Operating Procedure
TIE	Toxicity Identification and Evaluation
TM	Trockenmasse
TOC	Total Organic Carbon
T <sub>RS</sub>	Trockenrückstand
WRRL	EG Wasserrahmenrichtlinie

## 1. Einleitung

Weltweit stieg die Produktion chemischer Produkte seit 1930 bis zum Jahr 2001 von einer Million Tonnen Chemikalien auf 400 Millionen Tonnen an (EC, 2001). Diese Entwicklung führte neben einer Belastung von Böden und Luft auch zu einer globalen Belastung der Gewässerqualität.

Erstmalig hat sich mit dem Inkrafttreten der EG-Richtlinie des Rates zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik, kurz Wasserrahmenrichtlinie (WRRL), am 22.12.2000 die Europäische Union ein gemeinsames Ziel in der Gewässerpolitik über politische und staatliche Grenzen hinweg gesetzt. Darin werden in Artikel 4 die Umweltziele der WRRL (Europäisches Parlament, 2000) festgelegt. So soll der „gute ökologische“ und „gute chemische“ Zustand bis 2015 in europäischen Gewässern erreicht werden. Diese einheitliche Gewässerpolitik dient dem Schutz, der Verbesserung und dem Verschlechterungsverbot von Oberflächengewässern, Grundwasser und Küstengewässern. In Grund (23) (Europäisches Parlament, 2000) wird ein Endziel der Richtlinie definiert: *„die Eliminierung prioritärer gefährlicher Stoffe zu erreichen und dazu beizutragen, dass in der Meeresumwelt für natürlich vorkommende Stoffe Konzentrationen in der Nähe der Hintergrundwerte erreicht werden“*.

Nach der Bestandsaufnahme und Aufstellung von Monitoringprogrammen, die in Deutschland gemäß Zeitplan bis 2004 bzw. 2006 abgeschlossen wurden, konnte festgestellt werden, dass nur 10 % aller Oberflächenwasserkörper bis 2015 einen „sehr guten“ oder „guten“ ökologischen Zustand erreichen. Der chemische Zustand kann hingegen bei 88 % der Wasserkörper als „gut“ bewertet werden (BMU, 2013). Um einen guten Zustand aller Wasserkörper zu erreichen, müssen Schadstoff-, Phosphor- und Stickstoffeinträge, insbesondere diffuse Belastungsquellen verringert werden. Die Gewässerstruktur muss dahingehend verbessert werden, dass sie den dortigen Lebensgemeinschaften einen optimalen Naturraum bietet.

Im Anhang X in der WRRL findet sich eine Liste von 33 aufgeführten prioritären Stoffen und Stoffgruppen, die alle 4 Jahre, erstmals 2004, aktualisiert werden soll. Mit dieser Auswahl wird jedoch nur ein Bruchteil der chemischen Belastung gemessen. Metaboliten, Kombinationswirkungen und viele weitere Substanzen werden nicht erfasst (Baier, mündl. Mitteilung, 2013).

Wie in anderen Gewässern geht die Belastung der Elbe durch industrielle Einleitungen zurück. Verstärkt hat sich hingegen der Schadstoffeintrag durch die Landwirtschaft. Außerdem belasten Arzneimittel, Kosmetika und Stoffe mit endokriner Wirkung die Wasserqualität (Flussgebiets-

gemeinschaft-Elbe, 2009). Der Zustand der Elbe war sehr schlecht und wurde 1990 als „ökologisch zerstört - Gewässer mit tierlosen Lebensgemeinschaften durch sehr starke toxische Belastung“ (Schwartz & Keller, 2011) bezeichnet. Heutzutage hat sich der Fluss erholt und es haben sich wieder über 100 Fischarten angesiedelt.

Über Jahrzehnte haben sich jedoch viele toxische Stoffe in den Sedimenten abgelagert. Bei einem Screening von Belastungsursachen wurde die „Historische Verschmutzung aus Sedimenten“ als eine Hauptursache für die Belastung von Oberflächengewässern mit prioritären Stoffen identifiziert (Hollert et al., 2007). Sedimente stellen daher nicht nur Senke, sondern auch Speicher und Quelle für toxische Stoffe dar und beeinträchtigen auf diese Weise die ökologische Funktionsfähigkeit eines Gewässers. Durch Sedimentation und Adsorption heften sich Schadstoffe aus der Wasserphase an die Sedimente und können von dort wieder remobilisiert werden.

Sedimente werden im Untersuchungs- und Maßnahmenprogramm zur Umsetzung der WRRL nicht mit Biotests, welche die toxikologische Wirkung von Wasser oder Sedimenten beurteilen, sondern nur auf einige Substanzen chemisch analysiert. Die Sedimentbewertung mit Biotests ist somit in der Umsetzung der WRRL nicht direkt implementiert, jedoch fließen die Ergebnisse von Biotestverfahren bei der Festlegung von Immissionsgrenzwerten (Umweltqualitätsnormen) für die prioritären Substanzen in Wasser und Biota ein (Tochtrichtlinie (2008/105/EG)). Trotzdem ist eine ökotoxikologische Untersuchung für die Beurteilung und Verbesserung des Gewässerzustandes unerlässlich, da in der chemischen Analyse der Sedimente gemäß WRRL nur die Konzentrationen von einzelnen Stoffen wie Schwermetalle, TOC und AOX gemessen werden. Sedimente sowie das Sedimentmanagement sollten für eine einheitliche Bewertung und Umsetzung der WRRL ein wichtiger Teil der europäischen Gewässerpolitik sein (Hafenbautechnische Gesellschaft, 2004; SedNet, 2013). In Deutschland ist darüber hinaus in der Handlungsanweisung der Bundesanstalt für Gewässerkunde zum Umgang mit Baggergut die ökotoxikologische Untersuchung von Baggergut mit aquatischen Organismen (Grünalge ISO 8692, Leucht Bakterien ISO 11348 und mit *Daphnia magna* ISO 6341) verankert (Feiler et al., 2012).

Mit biologischen Kurzzeittests, wie beispielsweise dem Fischeitest, kann die toxikologische Wirkung von Oberflächen-, Industrie- und Grundwasser oder Sedimenten besser bewertet werden. Umfasst der Testzeitraum nicht den vollständigen Lebenszyklus des Testorganismus spricht man von Kurzzeittests, die in der Regel 24 oder 48 Stunden dauern und somit die akute Toxizität erfassen. Der Vorteil gegenüber Langzeittests liegt in der schnelleren Durchführbarkeit. Langzeittests haben den Vorteil gegenüber Kurzzeittests, dass sie chronische Effekte (z.B. Reproduktion) erfassen können und der Testorganismus durch den längeren

Testzeitraum bei einer niedrigeren Toxizität reagieren kann. Ein mögliches biologisches Testverfahren zur Erfassung der Sedimenttoxizität ist der Fischei-Sedimentkontakttest (Hollert et al., 2003). Bei diesem Test werden, wie im Fischeitest nach DIN EN ISO 15088 – T6 (2009), Embryonen des Zebraäbrblings als Testorganismus in einem Kurzzeittest (48 Stunden) verwendet. Die Aufgabe der vorliegenden Bachelorarbeit besteht darin, die Versuchsbedingungen des Fischei-Sedimentkontakttests derart zu modifizieren, dass dieser am Hamburger Institut für Hygiene und Umwelt für die Sedimentbewertung etabliert werden kann. Das entscheidende Problem lag darin, dass sauerstoffzehrende Sedimente häufig die Aufrechterhaltung einer optimalen Sauerstoffversorgung (4 mg/L O<sub>2</sub>) (DIN, 2009) während der Testphase verhindern. Dadurch bedingt ist keine eindeutige Abgrenzung zwischen toxischen Effekten und Schädigungen der Fischeibryonen aufgrund von Sauerstoffmangel mehr möglich.

---

## 1.1 Stand der Wissenschaft

### 1.1.1 Gesetzliche Grundlagen zum Fischei-Sedimentkontakttest

Beim Fischeitest und dem Fischei-Sedimentkontakttest werden Fischeier über einen Zeitraum von 48 Stunden bis zum phylotypischen Stadium einer Umweltprobe bzw. einem Schadstoff gegenüber exponiert. Vor ihrem Schlüpfen gelten die Fische im juristischen Sinne noch nicht als Tiere. Der Fischei- und somit auch der Fischei-Sedimentkontakttest zählen demnach nicht zu Tierversuchen, sondern zu den „suborganismischen Tests“, da die Fische erst nach rund 72 Stunden schlüpfen und ihr Zentralnervensystem zur Versuchszeit noch nicht voll entwickelt ist (Hydrotox, 2013). Die Richtlinie 2010/63 der EU enthält explizit die Formulierung „*independently feeding larval forms*“ als Kriterium für den Zeitpunkt, ab dem die Fische Tierversuchen zugeordnet werden. Dieser Zeitpunkt erfolgt bei Zebrabärblingen ungefähr 120 Stunden nach der Befruchtung (Strähle et al., 2010).

Allgemein als Tierversuche bezeichnet, werden diese durch *Richtlinie 2010/63/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere* (EU, 2010) überwacht. Artikel 10 beinhaltet die *speziell für die Verwendung in Verfahren gezüchteten Tiere*, worunter auch die Zebrabärblinge fallen. Besondere Bestimmungen, unter anderem zu ihrer Haltung, zu Wasserversorgung und -qualität oder Umgebungsparameter, werden für die Fische in Kapitel 11 des Anhangs I festgelegt.

Von 2001 bis 2003 nahm die Anzahl der für die Umweltprüfung von Chemikalien relevanten Fischttests stark ab. Dies ist durch den Ersatz des akuten Fischttests durch den Fischei-Test bei der Abwasserüberwachung begründet. So erzielt der 2001 standardisierte Fischei-Test (DIN, 2001) für die Untersuchung von Abwasser ähnliche oder gleiche Ergebnisse. Seit 1.1.2005 ersetzt der bei der ISO 2007 normierte Test bei der Abwasserprüfung in Deutschland aus Tierschutzgründen den akuten Fischttest mit der Goldorfe.

Auch in den Gründen (33), (47), (49), (64) der REACH-Verordnung, die im Juni 2007 in Kraft trat, (REACH-Verordnung, 2012) wird aufgeführt, dass Biotests mit lebenden Tieren verringert und nach Alternativmethoden gesucht werden soll, was ebenfalls zu einem Rückgang der Versuche mit adulten Fischen und einer Zunahme von Biotests mit Fischembryonen geführt hat.

### 1.1.2 Aktuelle Forschungsgebiete mit dem Zebrabärbling

Der Zusammenhang von toxikologischen Schadstoffen und ihrer spezifische Wirkungsweise auf Zellstrukturen, Gewebe und Organe von Organismen wird derzeit unter anderem mit dem Zebrabärbling erforscht. Der Zebrabärbling gehört zu den wichtigsten Modellfischen für die

Erforschung der Entwicklungsbiologie der Wirbeltiere und wird als Testfisch unter anderem auch in den OECD Guidelines 203, 204 und 210 empfohlen (DIN, 2009).

Verschiedene Studien konnten bereits nachweisen, dass Sedimentextrakte aus deutschen Flüssen genotoxisches, endokrines, mutagenes und dioxinartiges Gefährdungspotential besitzen (Hollert, 2001; Kosmehl et al., 2004; BfG, 2008; Kosmehl et al., 2012). Forschungsbedarf besteht aber insbesondere darin, mit nativen Proben, die tatsächlich bioverfügbaren toxischen Wirkungen im Sinne eines „*Weight of Evidence*“ nachzuweisen, die anders als Extrakte eindeutige Nachweise ergeben (DanTox-Symposium, 2013).

Das DanTox-Projekt forscht nach Methoden zur Bewertung von Sedimenttoxizität mit dem Zebraabräbling. Dabei beschäftigt es sich nicht nur mit der allgemeinen Toxizität, sondern vor allem mit der spezifischen toxischen Wirkung auf den Testorganismus. Beispielsweise werden Einzelzellen des *Danio rerio* auf den Grad ihrer DNA-Fragmentierung im Comet Assay untersucht (DanTox-Symposium, 2013). Auf diese Weise können Rückschlüsse auf die Einflüsse von veränderten Umweltbedingungen auf die physiologischen Änderungen in den Embryonen gezogen werden. Zukünftig will man Methoden realisieren, die prognostizierende Aussagen über mögliche Auswirkungen von Schadstoffquellen auf die Umwelt treffen können.

## **1.2 Stand der Entwicklung des Fischei-Sedimentkontakttests und Fragestellung**

Mit dem Fischei-Test nach DIN EN ISO 15088 – T6 werden lediglich Wasserproben untersucht. Darauf basierend wurde im Jahr 2003 eine Veröffentlichung von einem Sedimentkontakttest in Heidelberg publiziert (Hollert et al., 2003) mit dem partikelgebundene Schadstoffe mit Hilfe von Fischeiern bewertet werden.

Hollert et al. (2003) erläutern eine mögliche Durchführung, bei der sie unter anderem verschiedene Verdünnungsstufen von Sedimenten ansetzen. Ähnlich beschreibt Keiter (2007) seine Versuche und Verdünnungsstufen in seiner Dissertation. Ein großer Unterschied zu Hollert et al. (2003) und Keiter (2007) ist im Versuchsaufbau von Grote et al. (2004) zu finden, da er ein Belüftungssystem verwendet und einen größeren Versuchsansatz wählt.

Auch das DanTox-Projekt beteiligte sich maßgeblich an der Entwicklung und Etablierung dieses Tests (Keiter et al., 2010). In seiner Dissertation nahm Zielke (2011) verschiedene Veränderungen vor, so verwendete er einen Horizontalschüttler für seine Versuche bei 50 rpm. Weitere untersuchte Einflüsse waren unter anderem Testgefäßmaterialien, Extraktionsmethoden und die Zeitabhängigkeit (Zielke, 2011).

Erfolgreich durchgeführt wird der Fischei-Sedimentkontakttest in Deutschland an einigen Universitäten und Instituten, wie der RWTH Aachen oder der Universität Heidelberg.

Im Rahmen der Masterarbeit von Charlotte Raasch fanden bereits im Jahr 2011 die ersten Versuche zum Fischei-Sedimentkontakttest am Institut für Hygiene und Umwelt in Hamburg (HU) statt. Sie lehnte sich in ihrer Versuchsdurchführung an den Fischei-Sedimentkontakttest an, wie er an der RWTH Aachen von Hollert et al. (2010) angewandt wurde. Es wurde von ihr getestet, ob die Verwendung von Quarzsand als Kontrollmedium einen toxischen Effekt auf die Embryonen hat und welche Effekte auf die Embryonen bei unterschiedlich langer Lagerung der Kontrollproben zu erkennen sind. Es stellte sich heraus, dass durch den Quarzsand keine Effekte auf die Fischembryonen festzustellen sind und bei einer Lagerung der Kontrollansätze länger als fünf Tage die Qualitätskriterien eingehalten werden, sich jedoch Pantoffeltierchen in den Positivkontrollen befinden. Exemplarisch wurden Toxizitätsuntersuchungen von verschiedenen Sedimenten und Schwebstoffen aus Hamburger Gewässern durchgeführt. Dabei wurden Versuchsbedingungen und Versuchsabläufe festgelegt und eine Standardarbeitsanweisung (SOP) erstellt. Die Schüttelfrequenz für den Horizontalschüttler wurde darin auf 70 rpm festgelegt. Die ausreichende Sauerstoffversorgung der Embryonen während der Testzeit stellte die größte Herausforderung dar. Für die Sauerstoffmessung wurde zum einen das Überstandswasser einer Probe vereinigt und zum anderen ein um den Faktor zehn größerer Versuchsansatz gemessen, da das Volumen zu gering für eine Messung mit der damals zur Verfügung stehenden Sauerstoffsonde (WTW Oxi 330) war. Demzufolge können diese Sauerstoffmessungen nur als Abschätzung gewertet werden (Raasch, 2011). Um die Sauerstoffzehrung der Sedimente genauer zu untersuchen, empfahl Charlotte Raasch die Anschaffung einer Mikrosonde.

Daraufhin hat Dennis Theel in den Versuchen zu seiner Bachelorarbeit im Jahr 2013 verschiedene Mikrosonden getestet und die Anschaffung der Mikrosonde der Firma PreSens empfohlen (Theel, 2013). Nach der Anschaffung dieser Sonde im HU war es möglich, die Sauerstoffkonzentration in den Testgefäßen gezielt zu erfassen. Nachdem Effekte durch das Verdünnungswasser, dem 3,4-Dichloranilin (Positivkontrolle) und vom Quarzsand auf den Sauerstoffgehalt ausgeschlossen werden konnten, stellte Theel mit Hilfe der Mikrosonde sehr unterschiedliche Sauerstoffkonzentrationen im Überstandswasser seiner Sedimentproben, abhängig von der Schüttelfrequenz, fest. Mit dem Sediment (aus der Bille) wurden Sauerstoffmessungen ohne Schüttler sowie bei einer Schüttelfrequenz von 70 rpm, 90 rpm und 110 rpm durchgeführt. Die Messung fand jeweils an vier bis sieben Zeitpunkten während des Fischei-Sedimentkontakttests und in unterschiedlichen Tiefen der Wasserphase statt. Ab einer Schüttelfrequenz von 90 rpm stieg der Sauerstoffgehalt im Laufe der Testdauer von 48 Stunden auf über 4 mg/L O<sub>2</sub> an, welcher in der DIN 15088 (DIN, 2009) als Mindestkonzentration festgelegt ist.

Ziel der vorliegenden Bachelorarbeit war die Weiterentwicklung des Fischei-Sedimentkontakttestes. Die standardisierten Versuchsbedingungen sollten derart modifiziert werden, dass die Sauerstoffversorgung in der Wasserphase direkt über dem Sediment, insbesondere bei stark zehrenden Sedimenten aus der Elbe, über die gesamte Testdauer von 48 Stunden gewährleistet ist.

Dazu wurde zunächst der Verlauf der Sauerstoffverhältnisse über dem Sediment mit Hilfe von kontinuierlichen Messungen ohne Schüttler dokumentiert. Um festzustellen, wie sich eine Erhöhung der Schüttelfrequenz positiv auf den Sauerstoffgehalt auswirkt, wurde im zweiten Schritt der Sauerstoffgehalt bei unterschiedlichen Schüttelfrequenzen über die gesamte Testdauer kontrolliert. Parallel dazu war in weiteren Versuchen mit Negativkontrollen auf Quarzsand zu überprüfen, inwieweit sich eine Erhöhung der Schüttelfrequenz durch das Reiben der Fischeier auf dem Quarzsand negativ auf die Embryonen auswirkt.

Als weitere Möglichkeit den Sauerstoffgehalt im Überstandswasser zu verbessern, wurde die Vorinkubation der Sedimentproben getestet. Hierzu wurde das Sediment mit dem Wasser zuerst zusammengeführt und die Fischeier erst nach einer bestimmten Zeit, im besten Fall bei Sicherstellung eines ausreichenden Sauerstoffgehalts, dazugegeben und dann der Test gestartet. Mit dem Bestreben die Toxizität von Elbe-Schwebstoffen zu bestimmen, wurden abschließend Elbe-Schwebstoffproben im Sediment-Toxizitätstest untersucht und dabei der Sauerstoffgehalt zu Testbeginn und am Ende nach 48 Stunden kontrolliert. Da die Elbe auch vom Hochwasser 2013 betroffen war, wurden zwei Schwebstoffproben während unterschiedlicher Phasen des Hochwassers ebenfalls im Fischei-Sedimentkontakttest untersucht.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Der Zebraärbling – *Danio rerio*

Erstmals beschrieben wurde *Danio rerio* 1822 von Francis Buchanan-Hamilton. Er gehört zur Familie der Knochenfische (*Cyprinidae*) und dort zu der Unterfamilie der Karpfenfische (*Rasborinae*) (Hamilton, 1822). Ursprünglich stammt er vom indischen Subkontinent, wo er in Ländern wie Bangladesch, Pakistan und Indien beheimatet ist. Der Zebraärbling lebt vorwiegend in stehenden Gewässern, beispielsweise auch in Reisfeldern, oder in langsam fließenden Flüssen. Er zählt zu den Süßwasserfischen und bevorzugt eine Wassertemperatur von circa 26 °C. Allerdings hat der Zebraärbling eine hohe Toleranz gegenüber der Wassertemperatur und kann in seiner natürlichen Umgebung bei Temperaturen von 16,5 bis 33 °C vorkommen (Lawrence, 2007).



**Abbildung 2.1 Weiblicher (links) und männlicher Zebraärbling (rechts)**

Internetquelle: <http://www.koelle-zoo.de>

Durch seine charakteristischen schwarzen Streifen auf der Längsseite wird der 3 bis 4,5 cm lange Fisch auch Zebrafisch genannt. Die Männchen sind schmaler gebaut als die Weibchen und weisen eine goldene Färbung an ihren Flossen und an ihrem Bauch auf, während die Weibchen allenfalls an ihrer Unterseite eine goldene Farbnuance erkennen lassen (Wixon, 2000). Sie sind vor allem dann dicker, wenn sie kurz vor dem Laichen Eier ausgebildet haben.

Roland Nagel führte bereits 1990 erste Versuche mit Zebraärblingen durch (Nagel et al., 1991), denn bedingt durch die kurzen Laichintervalle, die transparenten Fischeier sowie seine problemlose Haltung und Zucht wird der Zebraärbling inzwischen als ein vielfach verwendeter Testorganismus bei den Vertebraten eingesetzt. Auch die gute Unterscheidbarkeit

der Geschlechter prädestiniert den Zebrabärbling als Testorganismus und er gehört inzwischen zu den am besten untersuchten Fischarten. Mit 3 Monaten sind die Fische geschlechtsreif und dürfen ab einem Alter von 6 Monaten bis 2 Jahren im Fischei- bzw. im Fischei-Sedimentkontakttest eingesetzt werden (DIN, 2009).

Zusätzlich zu umwelttoxikologischen Untersuchungen spielt der Einsatz in der Genetik-Forschung eine große Rolle. Viele gewonnene Erkenntnisse lassen sich vom Zebrabärbling auf den Menschen übertragen, so sind DNA-Microarrays und der Einsatz von PT-PCR wichtige Bestandteile der aktuellen Forschung (DanTox-Symposium, 2013).

### 2.1.1 Hälterung und Eiproduktion

Die ausgewachsenen Fische werden im Hamburger Institut für Hygiene und Umwelt in 40-Liter Aquarien gehalten. Alle dazugehörigen Bestimmungen zur Hälterung und Zucht sind in der SOP zum Fischei-Test verankert (SOP, 2009). In den Aquarien schwimmen zwischen zwölf und 28 Fische, dabei sollten ungefähr doppelt so viele Männchen wie Weibchen vorhanden sein. Bei dem verwendeten Wasser handelt es sich um Trinkwasser, das vorher durch eine Aktivkohlepatrone und durch einen Kupfer-Ionen-Austauscher gelaufen ist, um den Fischen eine geeignete Wasserqualität zu gewähren und eine Belastung mit Metallen auszuschließen. Einmal in der Woche erfolgt ein Teilwasserwechsel der Aquarien, bei dem die Hälfte des Wassers durch frisches erneuert wird. Die notwendige Wassertemperatur von 26°C ( $\pm 1$  °C) nach DIN 38415-6 (2009) wird mit einem Datalogger aufgezeichnet. Der pH-Wert soll bei einem Wert von 8,0 leicht im alkalischen Bereich liegen und wird, wie der Sauerstoffgehalt, zweimal in der Woche in allen Aquarien gemessen und in einem Labortagebuch dokumentiert. Der Hell-Dunkel-Rhythmus in der Zucht beträgt 14 zu 10 Stunden, welcher über eine Zeitschaltuhr geregelt ist. Algenbewuchs und Belag im Aquarium werden mit Filterwatte entfernt. Alle drei Monate wird die Pumpe gereinigt, damit optimale Lebensbedingungen gegeben sind. Gefüttert werden die Fische mit Trockenfutter der Firma Tetra Min und mit Lebendfutter in Form von Artemien und Daphnien.

Neben Wassertemperatur und pH-Wert erfolgt einmal wöchentlich zusätzlich eine Überprüfung des Nitrat-, Nitrit- und Ammoniumgehalts mit Hilfe von Schnelltests, außerdem wird die Wasserhärte alle vier Wochen bestimmt und dokumentiert.

Für die Eiproduktion werden adulte Tiere im Verhältnis Männchen : Weibchen von 2 : 1 in den Laichbecken verwendet. Sie müssen einen einwandfreien Gesundheitsstatus aufweisen, dürfen keine Skelettdeformationen haben oder medikamentös behandelt worden sein (Vobach & Kammann, 2003). Am Abend vor der gewünschten Eiablage werden die Fische in die Laichbecken umgesetzt. Tiere, die zum Abläichen aus den Hälterungsbecken genommen wurden, sollen danach etwa eine Woche Ruhe haben.

Durch gedimmtes Licht im Fischlabor wird der Sonnenaufgang imitiert. In freier Natur balzen und laichen die Tiere ganzjährig innerhalb der ersten Stunde nach Sonnenaufgang. Dieses Verhalten wird ausgenutzt, um Fischeier für den anstehenden Test zu erhalten. Stimuliert werden die Fische zusätzlich durch eine Pflanzenatrappe. Die Weibchen können in der Regel einmal in der Woche Eier ablaichen, pro Weibchen sind bis zu 300 Eier möglich. Als Laichräuber würden die Zebraabürblinge normalerweise ein Teil der abgelegten Eier sofort fressen. Deshalb werden Laichkästen in die Laichbecken eingesetzt, damit die abgelaichten Eier durch die Maschen fallen können. Dort werden sie circa eine Stunde nach Einschalten des Lichts

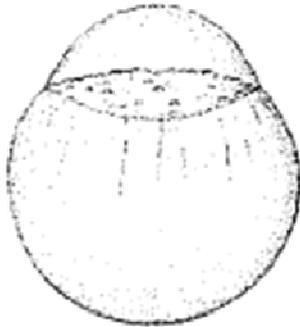
entnommen und unter dem Mikroskop auf ihr Entwicklungsstadium und ihre Befruchtungsrate überprüft. Die nicht für den Test benötigten Eier werden für die Nachzucht eingesetzt.

### 2.1.2 Embryonalentwicklung

Die Embryonalentwicklung von *Danio rerio* wurde in Laboren sehr genau untersucht und in der Literatur umfassend beschrieben. Nachfolgend wird die Entwicklung erläutert, wie sie von Kimmel et al. (1995), Vobach & Kammann (2003) und Westerfield (2000) beschrieben wird.

Die Befruchtung der Eier und ihre embryonale Entwicklung finden außerhalb des Muttertiers statt. Dadurch lässt sich ihre Entwicklung gut beschreiben und prädestiniert sie für den Einsatz in Laboren. Sind abgelaichte Eier nicht befruchtet worden, koagulieren sie innerhalb der ersten Stunden und sind als weiße, nicht weitere differenzierte Kügelchen zu erkennen. Ausgeschlossen vom Test werden außerdem diejenigen Eier, die Unregelmäßigkeiten in ihrer Eihülle aufweisen oder eine Asymmetrie bei der Teilung erkennen lassen.

Als Zygote bezeichnet man das befruchtete Ei, bevor es mit der Zellteilung beginnt. Zu diesem Zeitpunkt beträgt der Durchmesser des Eies etwa 0,7 mm. Die Eihülle, das Chorion, ist



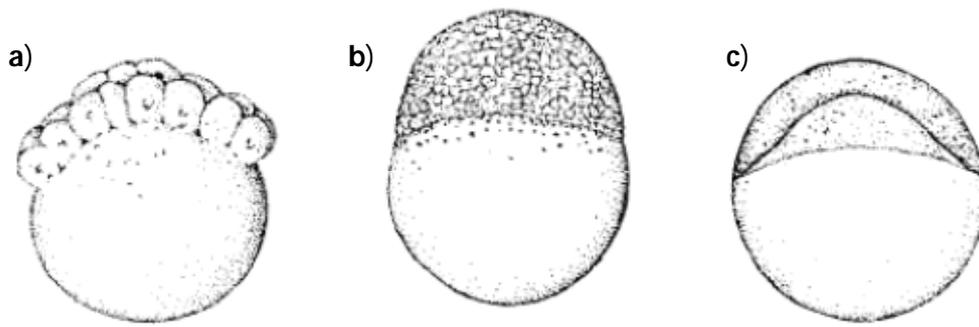
**Abbildung 2.2** Zygote, 1-Zell-Stadium (nach Kimmel et al., 1995)

transparent, umgibt den Perivitellinraum und begrenzt das Ei des Zebraärbblings. Circa 45 Minuten nach der Befruchtung findet die erste Zellteilung statt, alle 15 Minuten folgen weitere Zellteilungen (Vobach & Kammann, 2003).

In der Abbildung 2.2 ist ein Keim im 1-Zell-Stadium dargestellt, mit diesem Stadium beginnt die zytogene Phase und endet nach 45 Minuten mit der ersten Zellteilung.

Die Keimscheibe, die sich zusammen mit dem Dotter im Perivitellinraum befindet, teilt sich im Intervall zwischen 45 Minuten und  $2\frac{1}{4}$  Stunden synchron in 4, 8, 16, 32 und 64 Zellen. Diese Stadien der Zellteilungsphase sind unter dem Mikroskop genau zu erkennen und im Test werden befruchtete Eier des gleichen Stadiums verwendet. In Abbildung 2.3 a ist das 32-Zell-Stadium abgebildet.

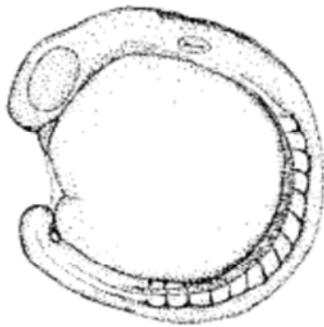
Nach circa 2 Stunden und 15 Minuten wird das Blastulastadium erreicht und es beginnt die Epibolie (Abbildung 2.3 b: Blastula  $3\frac{1}{3}$  h nach Befruchtung). Darunter versteht man die Wachstumsbewegung des Keimblattes über den Dotter. Der Keimling wirkt rund und der Dottersack bildet sich aus. Zwischen  $2\frac{1}{4}$  Stunden und  $4\frac{1}{2}$  Stunden nach der Befruchtung wird aus der elliptischen Form eine runde. Das Epiboliestadium ist erreicht (Abbildung 2.3 c).



**Abbildung 2.3 Entwicklung des Zebrafisches (nach Kimmel et al., 1995)**

Rund fünf Stunden nach der Befruchtung geht die Entwicklung in die Gastrulaphase über, in der die Epibolie weiter voranschreitet und der Dotter vom Blastoderm umwachsen wird (Vobach & Kammann, 2003).

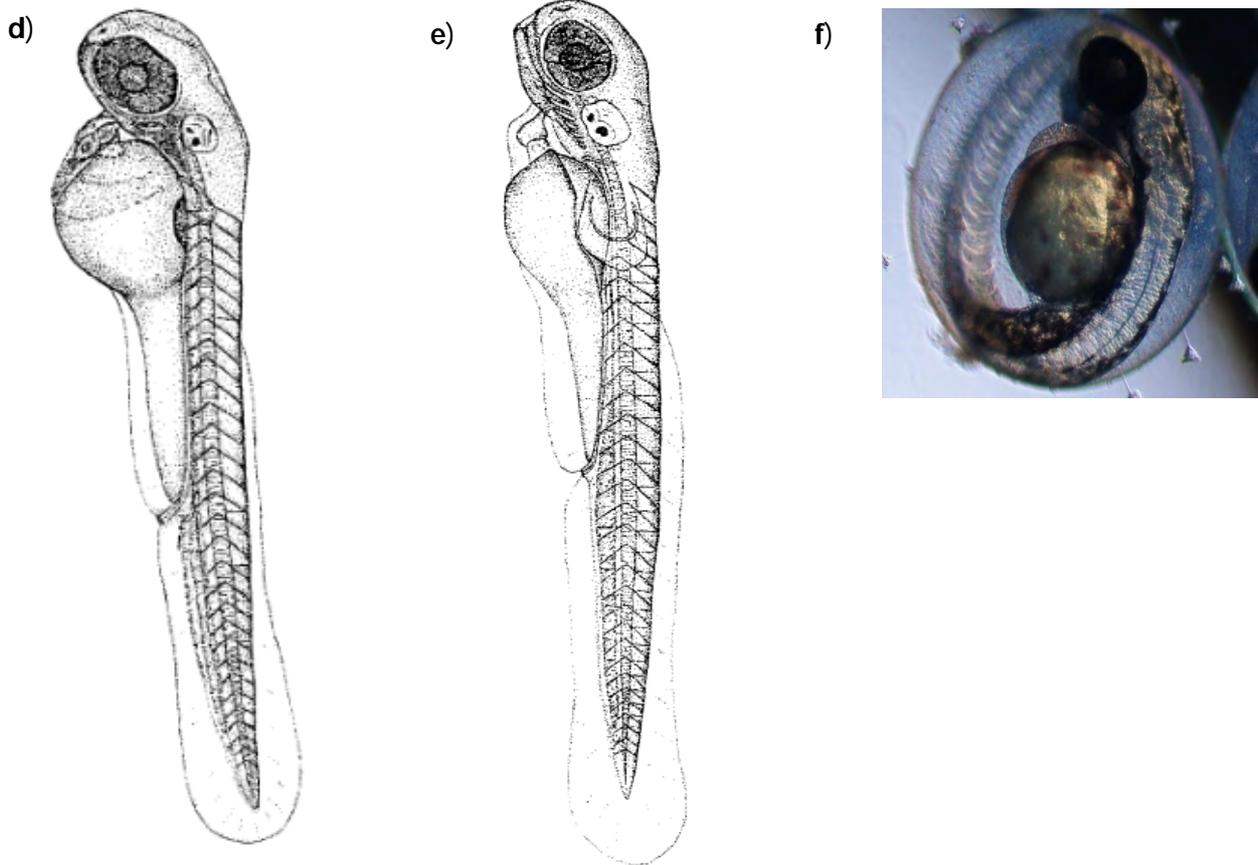
Die Gastrulation ist nach zehn Stunden abgeschlossen und es setzt die Segmentierungsphase ein. Der Schwanz und die Somiten werden ausgebildet, Gehirn und Nervensystem differenzieren sich



**Abbildung 2.4 Entwicklung des Zebrafisches (nach Kimmel et al., 1995)**

und die Ausbildung der Augen und Ohrplakode erfolgt. Der Embryo beginnt sich zu bewegen. Weiter differenzieren lässt sich diese Phase durch die Anzahl der ausgebildeten Somiten. 14 Somiten sind nach etwa 16 Stunden (Abbildung 2.4) erkennbar, 20 Somiten nach 19 Stunden und 26 Somiten nach 22 Stunden (Strecker, 2008). Einen Tag nach der Befruchtung haben sich bis zu 30 Somiten entwickelt und der längliche Fischlarvenkörper ist wahrnehmbar. Der circa 1,9 mm lange Embryo hat mittlerweile sein Herz und seinen Schwanz sichtbar angelegt,

die Pigmentierung und erste spontane Muskelbewegungen beginnen. Nach 25 bis 26 Stunden setzt der Herzschlag ein. Weitere 24 Stunden später, im phylotypischen Stadium, haben sich das Herz und der Blutkreislauf vollständig entwickelt, der Verdauungstrakt mit der Leber wächst heran und die Körperpigmentierung mit den Melanophoren wird sichtbar. Das schlagende Herz und die Bewegungen der rot gefärbten Blutzellen sind unter dem Mikroskop erkennbar und dienen als Merkmale einer normalen Entwicklung des inzwischen 2,5 mm langen Embryos. 48 Stunden nach der Befruchtung ist der Embryo bereit zum Schlüpfen (Abbildung 2.5 d). Der Dottersack wird aufgebraucht und die Größe des Embryos nimmt weiter zu. Nach 72 bis 96 Stunden ist der Embryo geschlüpft (Abbildung 2.5 e, f) und befindet sich im frühen Larvenstadium.



**Abbildung 2.5 Entwicklung des Zebrafischembryos**

d) 48 Stunden alter Embryo nach (Kimmel et al., 1995)

e) 72 Stunden alter Embryo nach (Kimmel et al., 1995)

f) Mikroskopische Aufnahme eines 48 Stunden alten Embryos

### 2.1.3 Sauerstoffbedarf des Zebrabärblings

Der Sauerstoffbedarf der adulten Zebrabärblinge wird lediglich in den Bestimmungen zur Hälterung festgelegt: einen optimalen Lebensraum bietet den Fischen Aquariumwasser mit mindestens 80 % Sauerstoffsättigung. Bei einem Standardluftdruck von 1013 mbar und einer Lufttemperatur von 20 °C beträgt die maximale Sauerstoffkonzentration in Wasser 9,06 mg/L. Dementsprechend gibt Lawrence (2007) einen Richtwert für den im Wasser gelösten Sauerstoff von  $7,9 \pm 0,16$  mg/L O<sub>2</sub> an.

Die Wissenschaft beschäftigt sich hingegen weniger mit dem Sauerstoffbedarf erwachsener Fische, vielmehr ist der Bedarf in den ersten Entwicklungsstufen und bei den juvenilen Tieren entscheidend. Der Soll-Wert von 4 mg/L O<sub>2</sub> für die durchgeführten Versuche im Fischei-Sedimentkontakttest lehnt sich an die DIN EN ISO 15088 – T6 an: *„Es ist sicherzustellen, dass die O<sub>2</sub>-Konzentration (...) bei Testbeginn 4 mg/L O<sub>2</sub> nicht unterschreitet.“* Dennoch zeigten Studien, dass sich keine Einschränkungen in der Entwicklung der Fischeier ergeben, wenn diese Sauerstoffkonzentrationen bis zu 2 mg/L O<sub>2</sub> ausgesetzt sind (Braunbeck & Lammer, 2006). In einigen Versuchen von Strecker et al. (2011) stellte dieser eine geringfügig verzögerte, aber dennoch normale Embryonalentwicklung bei Sauerstoffkonzentrationen zwischen 2 und 3 mg/L fest. Bei einer hypoxischen, also sauerstoffarmen Umgebung reagiert der Embryo mit der Einstellung oder Verlangsamung seiner Entwicklung. Somit kann er für bestimmte Zeit die Hypoxie überleben. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass ein gerichteter Blutkreislauf in der Embryonalentwicklung für die Sauerstoffversorgung nicht notwendig ist (Chen & Fishman, 1997; Grillitsch et al., 2005). Weinstein et al. (1996) zeigten, dass Mutanten ohne Erythrozyten die ersten zwei Wochen nach ihrer Befruchtung überleben. Dementsprechend erfolgt die primäre Sauerstoffversorgung durch Sauerstoffdiffusion durch das Chorion und das jeweilige Gewebe im Embryo (Grillitsch et al., 2005). Versuche zur Entwicklung der Körpermasse und der Körperlänge in den ersten 100 Tagen nach Befruchtung unter normoxischen (7,5 mg/L O<sub>2</sub>) und milden hypoxischen (4,3 mg/L O<sub>2</sub>) Bedingungen unterstützen die Aussage, dass leichte Hypoxie keine großen Effekte auf den Zebrabärbling hat. Erst ab einem Alter von 60 Tagen zeichnet sich ein deutlicher Unterschied und eine Verzögerung zu der Entwicklung bei normaler Sauerstoffumgebung ab (Barrionuevo et al., 2010). Durch hypoxische Bedingungen kann die Herzaktivität bei juvenilen und adulten Zebrabärblingen steigen und die Fröhschlupfrate erhöht werden (Jacob et al., 2002). Yaqoob & Schwerte (2010) untermauern diese Feststellung und ergänzen, dass sich der Herzschlag bei Normalbedingungen innerhalb von 48 Stunden wieder normalisiert. Der Sauerstoffverbrauch, den ein Zebrabärbling bis zu seinem Schlupf verbraucht, ist verhältnismäßig gering, dennoch variiert dieser durch individuelles Wachstum und Hungerresistenz (Bang et al., 2004).

In freier Natur kann die Sauerstoffkonzentration in Gewässern stark schwanken. In schnell fließenden Flüssen mit starken Turbulenzen wird mehr Sauerstoff eingetragen als in langsam fließenden Flüssen ohne Turbulenzen. Weiterhin schwankt der Sauerstoffgehalt je nach Tageszeit, denn tagsüber gelangt Sauerstoff beispielsweise durch Photosynthese ins Wasser, wohingegen die Atmung von Tieren und bakterieller Abbau den Sauerstoffgehalt verringert. Da die Fischeier sowohl in der freien Natur als auch im Fischei-Sedimentkontakttest auf dem Sediment liegen, spielt folglich der Sauerstoffgehalt direkt über dem Sediment eine besondere Rolle.

## 2.2 Sauerstoffzehrung von Sedimenten

Die Sedimentschicht mit ihrer unmittelbaren Umgebung beherbergt vielfältige Lebensgemeinschaften, die den gelösten Sauerstoff dort verbrauchen. Darüber hinaus sorgen mikrobielle Abbauprozesse und alle sonstigen anorganischen und organischen oxidativen Reaktionen vor allem in eutrophierten Gewässern für eine Minderung des Sauerstoffgehalts (Strecker, 2008). *Sediment Oxygen Demand* (SOD) bezeichnet den Effekt der Sauerstoffzehrung im Sediment. Dieser Effekt teilt sich in *Biological Sediment Oxygen Demand* (BSOD) und in *Chemical Sediment Oxygen Demand* (CSOD) (MacPherson et al., 2007).

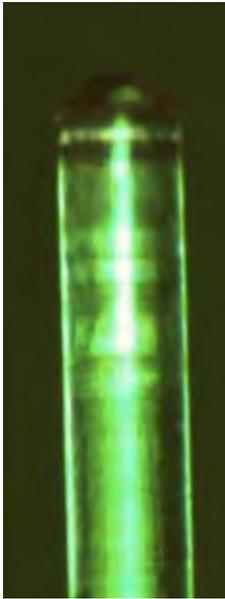
In der Wasserphase wird der Sauerstoffverbrauch als *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) und die dadurch entstehenden Sauerstoffschwankungen als *Sediment Oxygen Flux* (SOF) bezeichnet (MacPherson et al., 2007).

Einfluss auf den SOD können das Alter des Sediments, die Temperatur und auch die Oberflächenbeschaffenheit nehmen, bei dem BSOD in Sedimentnähe sind es hauptsächlich aerobe heterotrophe Organismen, die organisches Material als Energiequelle nutzen und Sauerstoff verbrauchen (Strecker, 2008).

Dies stellt beispielsweise bei den Elbesedimenten ein Problem dar, weil diese einen hohen organischen Anteil haben und hierdurch Abbauprozesse und oxydative Reaktionen eine starke Sauerstoffzehrung stattfindet. Um die Sauerstoffzehrung möglichst zu minimieren, werden die Sedimente nach Probenahme gekühlt und dunkel gelagert und anschließend gefriergetrocknet (siehe Kapitel 2.7). Dennoch ist schon während der Lagerung selbst bei 4 °C mit einer fortschreitenden Oxidierung der im Sediment vorhandenen organischen Substanzen und somit mit einer Sauerstoffzehrung zu rechnen. Bis das Sediment im Test eingesetzt wird, kann die Zehrung weiter voranschreiten und sich durch den Temperaturanstieg während des Tests auf 26 °C noch verstärken. Damit eine starke Sauerstoffzehrung keinen Einfluss auf die Ergebnisse im Fischei-Sedimentkontakttest nimmt, ist es notwendig, dass der Sauerstoffgehalt an der Stelle, an der die Fischeier liegen, gemessen, überprüft und gegebenenfalls verbessert wird.

### 2.3 Sauerstoffsonde

Zur Messung des Sauerstoffgehalts im Überstandswasser direkt über dem Sediment wurde die Mikrosonde TX3 der Firma Precision Sensing (Regensburg) eingesetzt.



Das Prinzip der optisch-physikalischen Messung beruht auf dem Effekt der dynamischen Lumineszenzauslöschung durch molekularen Sauerstoff (Quenching). Die drei Komponenten der LDO-Sonde (Lumineszenz Dissolved Oxygen) sind ein Luminophor, eine optische Einheit, die aus LEDs und einer Fotodiode besteht, sowie eine elektrische Auswerteeinheit. In der Mikrosonde sind Luminophor und die optische und elektrische Auswertekomponente durch eine Glasfaser (Abbildung 2.7) getrennt. Eingebettet ist die empfindliche Nadel in einer Spritze, aus der die Spitze zur Messung bewegt werden kann (Abbildung 2.8). Bei der Spitze handelt es sich um ein flat-brokensensortip mit einem Durchmesser von 140  $\mu\text{m}$  (Abbildung 2.6). Neben der Sauerstoffsonde kann ein Temperaturfühler angebracht werden, um die Temperatur zu messen (Huber & Krause, 2006).

**Abbildung 2.6 Flat-brokensensortip (Huber & Krause, 2006)**

Der wesentliche Vorteil bei diesem Messsystem liegt darin, dass kein Sauerstoff verbraucht wird. Anders als bei Clark-Sonden muss der Sensor nicht durchgehend vom Messmedium umströmt werden. Kurze Antwortzeiten von unter 15 s im gelösten Sauerstoff (unter 5 s im gasförmigen Sauerstoff) und die Wartungsfreiheit erleichtern den Umgang mit der Sonde. Das Material um den Luminophor ist gegen viele Chemikalien beständig, sodass dadurch kein Verschleiß auftritt (Theel, 2013).



Abbildung 2.7 Sauerstoffsensor mit Glasfaser (Huber & Krause, 2006)

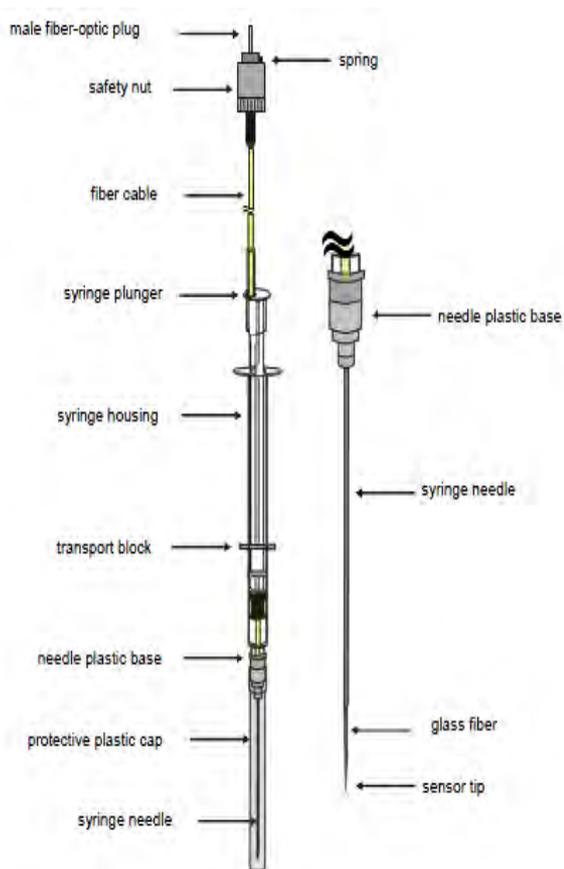


Abbildung 2.8 Schematischer Aufbau des Mikrosensor TX 3 (Huber & Krause, 2006)

## 2.4 Probenahmestellen und Probenahme

### 2.4.1 Schwebstoffe aus der Messstation Seemannshöft

Die Messstation Seemannshöft gehört zum Hamburger Wassergütemessnetz und befindet sich am linken Elbufer auf einem schwimmenden Ponton, in der Nähe des Köhlfleethafens, wie in Abbildung 2.9 zu sehen ist. Wie in allen Messstationen werden dort kontinuierlich physikalische und chemische Parameter erfasst. Neben dem Sedimentationsbecken (Abbildung 2.10) wird in der Messstation Seemannshöft zusätzlich auch noch das biologische Frühwarnsystem mit Daphnientoximeter und Algentoximeter betrieben (Hamburger Institut für Hygiene und Umwelt, 2013). Mit einer geringen Durchflussgeschwindigkeit fließt das Wasser aus der Elbe durch das Sedimentationsbecken. Darin enthaltene Schwebstoffe setzen sich ab („frisches, schwebstoffgebürtiges Sediment“) (Claus, 2010).

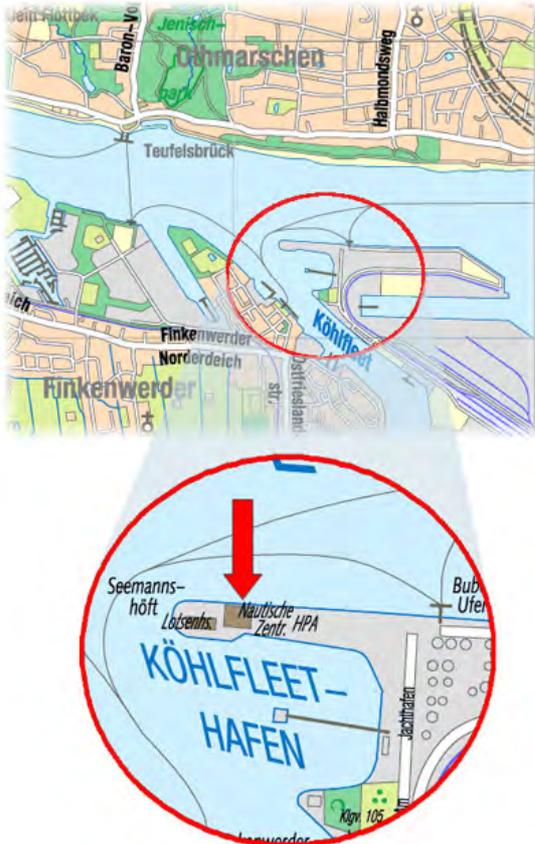


Abbildung 2.9 Probenahmestelle Seemannshöft (http://www.hamburg.de/hu/ 2013)    Abbildung 2.10 Sedimentationsbecken

### 2.4.2 Schwebstoffe aus der Messstation Bunthaus

Wie auch die Messstation Seemannshöft gehört die Station Bunthaus zum Hamburger Wassergütemessnetz. Sie liegt etwas nördlich der Teilungsstelle von Norder- und Süderelbe (Abbildung 2.11 und 2.12). Ebenso wie in Seemannshöft werden chemische und physikalische Parameter bestimmt, ein biologisches Frühwarnsystem betrieben und in einem Sedimentationsbecken die Schwebstoffe gesammelt. Das Probewasser wird über Kreiselpumpen in die schwimmende Station gepumpt (Hamburger Institut für Hygiene und Umwelt, 2013).

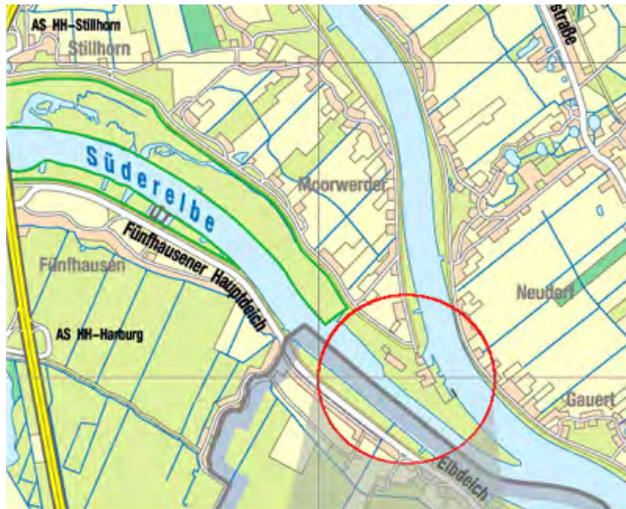


Abbildung 2.11 Probenahmestelle Bunthaus (<http://www.hamburg.de/hu/> 2013)



Abbildung 2.12 Messstation Bunthaus (<http://undine.bafg.de/servlet/is/12449/> 2013):

### **2.4.3 Probenahme**

In den durchgeführten Versuchen wurden Schwebstoffe aus der Elbe untersucht. Bei diesen Proben handelte es sich um Monatsmischproben aus März, April und Mai 2013, die jeweils über einen Monat in den Sedimentationsbecken in Seemannshöft und Bunthaus gesammelt wurden.

Zu Beginn eines jeden Monats werden diese Schwebstoffe aus den Becken entnommen und in Polyethylen (PE) Probenflaschen mit einem Volumen von 1,5 l gefüllt. Damit die Kühlkette nicht unterbrochen wird, werden diese gekühlt transportiert und bis zur Weiterverarbeitung im Kühlraum gelagert.

### **2.4.4 Schwebstoff-Proben während des Hochwassers im Juni 2013**

Tagelange Regenfälle verursachten von Ende Mai bis Mitte Juni 2013 ein Hochwasser in Mitteleuropa. Die Elbe trat in Deutschland insbesondere in Sachsen und Sachsen-Anhalt über ihre Ufer. In Hamburg waren die Auswirkungen vergleichsweise gering. Ein erhöhter Pegelstand, eine schnellere Fließgeschwindigkeit, eine stärkere Wassertrübung und ein erhöhtes Aufkommen von Treibgut waren äußerlich zu erkennen. Um die Schadstoff- und Keimbelastung zu überwachen, wurde ein Sondermessprogramm durchgeführt. Im Rahmen dieses Programms wurden zwischen dem 4. Juni und dem 1. Juli zusätzlich zu den kontinuierlichen Messungen an 17 Tagen Wasser- und Schwebstoffproben an der Messstation Seemannshöft genommen und analysiert (Schwartz, 2013). Dazu wurden die Proben 4 Stunden in einer Padberg Zentrifuge geschleudert, sodass anschließend die Schwebstoffe aus dem Rotor genommen werden konnten. Von den Schwebstoffproben wurden Proben des 11.6., dem Tag des Hochwasserscheitels (Undine, 2013), und vom 13.6. für den Fischei-Sedimentkontakttest verwendet.

## 2.5 Probenaufbereitung von Schwebstoff- und Sedimentproben

Für den Einsatz im Fischei-Sedimentkontakttest wurden die Schwebstoffe gefriergetrocknet getestet (BfG, 2004). Dazu wurde im ersten Schritt das überstehende Wasser der Schwebstoffprobe vorsichtig dekantiert und der verbleibende Schwebstoff mit Hilfe eines Löffels homogenisiert. Anschließend überführte man die Probe in eine Edelstahlschale (Fa. Retsch, Durchmesser 25 cm, Höhe mindestens 2,5 cm) und kühlte sie in einem Tiefkühlschrank auf mindestens -35 °C herunter. Dies verhinderte ein Verspritzen in der Gefriertrocknungsanlage. Zusätzlich wurde ein Edelstahlsieb (Fa. Retsch, Maschenweite 0,2 mm) auf die Schale aufgesetzt. Damit beim Fischei-Sedimentkontakttest wieder die gleiche Menge an Flüssigkeit zugeführt werden konnte, wie durch die Trocknung verloren ging, wurde der Trockenrückstand bestimmt. Dazu wurde die leere Schale mit Sieb ( $m_a$ ) und die Probe mit Schale und Sieb ( $m_b$ ) vor dem Trocknen gewogen und das Gewicht notiert.

Sobald die Probe ausreichend gefroren war, wurde sie in der Anlage Amsco Finn Aqua, Lyovac GT2 gefriergetrocknet. Je nach Wassergehalt und Menge der Probe dauerte dies 1 bis 3 Tage. Der Trocknungserfolg wurde optisch und durch Beobachten des Druckverlaufs nach Schließen der Lochkammer zwischen Kühl- und Trockenkammer überprüft.

Die Proben wurden entnommen und erneut mit Schale und Sieb gewogen ( $m_c$ ). Die Probe wurde anschließend über ein 2 mm Nylonsieb gesiebt und in eine geeignete Flasche gefüllt und diese mit der Tagebuchnummer beschriftet. Damit keine Feuchtigkeit eindringen und keine Reaktionsvorgänge stattfinden konnten, wurden die Flaschen bis zur Verwendung dunkel und kühl im Kühlschrank gelagert.

### 2.5.1 Chemische und physikalische Eigenschaften der Schwebstoffe

Der Trockenrückstand wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Trockenrückstand in Prozent:} \quad T_{RS} [\%] = \frac{(m_c - m_a)}{(m_b - m_a)} * 100$$

Einwaage leere Schale+ Sieb  $m_a$

Einwaage vor Trocknung  $m_b$

Einwaage nach Trocknung  $m_c$

Damit wurde ausgerechnet, wie viel Verdünnungswasser für den Test zum jeweiligen Schwebstoff zugegeben werden muss, um das entsprechende Verhältnis von Schwebstoff und Wasser zu erhalten.

100 % entsprechen dem Wassergehalt mit Schwebstoff, wie er ursprünglich vorlag. Davon wurde der Trockenrückstand  $T_{RS} [\%]$  subtrahiert, sodass der Anteil des Wassergehalts in Prozent errechnet wird, der durch die Gefriertrocknung entfernt worden war und später als

Verdünnungswasser wieder dazugegeben wurde. Die Methodik der Berechnung des Trockenrückstands und der damit verbundenen Ableitung einer einheitlichen Zugabe des Verdünnungswassers wurde erst im Laufe der Versuche entwickelt (DanTox Symposium, mündl. Mitteilung, 2013), sodass das Verfahren nur bei den Schwebstoffen vom Mai angewendet wurde. Im Labor des Instituts wurde von allen Proben eine Vielzahl an chemischen und physikalischen Parametern bestimmt und für diese Arbeit zur Verfügung gestellt. Der Glühverlust kann als Maß für den Anteil an organischen Substanzen gesehen werden und wurde für die Schwebstoffproben im HU zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit leider nicht bestimmt. Als organischer Summenparameter fungiert daher der TOC-Gehalt (*Total Organic Carbon*), welcher die Konzentration an organisch gebundenen Kohlenstoff angibt. Die Bestimmung des TOC-Gehaltes von Schwebstoffen und Sedimenten wird am HU durch die DIN EN 1484 - H3 geregelt (CEN, 2012). Grundlage zur Bestimmung des TOC-Gehaltes ist die Umwandlung des vorhandenen Kohlenstoffs durch Oxidation.

Schwermetalle wie beispielsweise Blei, Cadmium, Chrom, Eisen, Kupfer, Mangan oder Zink wurden ebenfalls bestimmt. Darüber hinaus wurde die Belastung an organischen Schadstoffen wie Polychlorierte Biphenyle, Benzol-Verbindungen oder Organochlorpestiziden gemessen. Alle verwendeten Analysemethoden befinden sich im Anhang I.

## 2.6 Chemikalien und Geräte

Angepasst an den Entwurf der SOP für den Fischei-Sedimentkontakttest sind die verwendeten Chemikalien und Geräte (SOP, 2011) aufgelistet.

- 3,4-Dichloranilin (3,4-DCA)
- HCl 0,1 n, Merck Art 1.09060.1000
- NaOH 0,1 n, Merck Art 1.09137.1000
- Technischer Puffer: pH 4,0; 7,0; 6,865
- Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 1g/100ml zur Kalibrierung der Sauerstoffsonde
- Watte aus Baumwolle
- Quarzsand F36 (Quarzwerke GmbH Frechen, Deutschland)
- pH-Meter WTW 320 mit Elektrode SenTix 41
- Sauerstoff-Messgerät WTW Oxi 330 mit Sauerstoffsensor Cellox 325
- Sauerstoff-Messgerät PreSensMicrox TX 3 Needle Sensor
- Inversmikroskop
- Kaltlichtquelle
- Binokular
- Horizontalschüttler
- Kühlinkubator
- 24-Well-Zellkulturplatte für die Auswertung
- Edelstahlsieb
- div. Aquarien mit Laichschalen, Kunstpflanzen, Futterautomaten und Außenfilter
- 20 ml Kristallisierschalen
- Parafilm (für Kristallisierschalen)
- Pipette mit 500-2500 µl und Pipettenspitzen
- Einweg-Plastikpipette
- Messkolben und Messzylinder 1 ml, 10 ml, 100 ml
- Aktivkohlepatrone und Kupfer-Ionen-Austauscher
- Verschiedene Glasware und Spatel
- Teststäbchen (Merckoquant) für Ammonium, Nitrit, Nitrat und Wasserhärte,
- Labortagebuch
- Waage Sartorius universal 20048

## 2.7 Ansetzen, Lagerung und Handhabung der Standardlösungen und Reagenzien

Das aufgedruckte Haltbarkeitsdatum der Lösungen und Chemikalien darf nicht überschritten werden, außerdem müssen angesetzte Lösungen immer mit einem Haltbarkeitsdatum versehen werden. Stammlösungen sind lichtgeschützt im Kühlschrank zu lagern und bis zu 6 Monaten verwendbar (SOP, 2009).

Das Verdünnungswasser weist die gleiche Zusammensetzung wie im Fischeitest (SOP, 2009) auf:

- 294,0 mg/L  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$
- 123,3 mg/L  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$
- 63,0 mg/L  $\text{NaHCO}_3$
- 5,5 mg/L KCl

Das Verdünnungswasser wird mit deionisiertem Wasser hergestellt. Damit sich eine Sauerstoffsättigung von etwa 8 mg/L  $\text{O}_2$  einstellt, wird das Wasser für 24 Stunden belüftet und auf  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  temperiert.

Für die 3,4-Dichloranilin Stammlösung (als Positivkontrolle) werden 0,05 g 3,4-Dichloranilin in 500ml Verdünnungswasser für 24 Stunden gerührt, da die Festsubstanz schwer löslich ist. Im Anschluss wird der pH-Wert mit 0,1 molarer Salzsäure auf 7,0 eingestellt wird.

## 2.8 Fischei-Sedimentkontakttest

Angelehnt ist die Durchführung an den Fischei-Test nach DIN EN ISO 15088 – T6. Statt der Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser oder Oberflächenwasser wird Sediment untersucht. Natives Sediment, Sedimentextrakte oder -eluate sind für diesen Test geeignet (Keiter, 2007). Im Rahmen dieser Arbeit werden gefriergetrocknete Schwebstoffproben untersucht. Im Folgenden wird der Ablauf des Tests erläutert, so wie er auch, abgesehen von einzelnen Modifikationen, von Hollert et al. (2003), Keiter (2007), Raasch (2011), und Theel (2013) beschrieben wird.

Der Versuch erstreckt sich über drei Tage.

### Tag vor Testbeginn

Am Morgen werden die Sedimentproben und acht Quarzsand-Kontrollproben vorbereitet. Letztere unterteilen sich nochmals in positive und negative Quarzsandkontrollen. Der Quarzsand stammt von den Quarzsandwerken GmbH Frechen (F36). Für jede Kontrolle werden 20 ml Kristallisierschälchen vorbereitet und beschriftet. Glasschalen minimieren die Adhäsion und somit den Verlust organischer Substanzen. Es wird je 3 g Quarzsand in die Schalen eingewogen. Hierbei ist eine Toleranz von 1 % ( $3 \text{ g} \pm 0,03 \text{ g}$ ) Quarzsand sinnvoll, um zeitlich schnell und dennoch genau arbeiten zu können. In die Schalen werden dann jeweils 4 ml Verdünnungswasser (EN ISO 15088:2008) gefüllt.

Anschließend werden die Kontrollen bis zum Versuchsbeginn mit Parafilm verschlossen und verbleiben über Nacht im Kühlinkubator bei 26 °C auf einem Horizontalschüttler.

Am Nachmittag vor Testbeginn müssen ausreichend Fische in das Laichbecken gesetzt werden, um Fischeier zu erhalten.

### Versuchstag / Tag der Eiablage

Am Versuchstag müssen die wässrigen Kontrollen vorbereitet werden, dazu werden wieder je 4 ml in acht Schalen gegeben und beschriftet, hierbei dienen vier Schalen für die wässrige Positivkontrolle und vier für die wässrige Negativkontrolle. Für eine Konzentration von 3,7 mg/L in den Positivkontrollen werden 185 µl DCA-Lösung (Konzentration 100 mg/L) in jedes Schälchen der acht Positivkontrollen (vier wässrige und vier Quarzsand) überführt. Dies entspricht dem LC<sub>70</sub>-Wert von Fischeiern mit 3,4-DCA. Auch hier richtet sich die Konzentration nach den gleichen Vorgaben wie im Fischeitest nach DIN EN ISO 15088 – T6 (DIN 2009). Analog zu den Quarzsandkontrollen wird je 3 g der zu untersuchenden Sedimentprobe in vier Schalen eingewogen und mit Verdünnungswasser soweit aufgefüllt, dass nach Wiederherstellung des Wassergehalts der ursprünglichen Probe (Siehe Kapitel 2.5.1) noch 2 ml Verdünnungswasser zugeben wird. Das Einwiegen kann auch schon am Tag vorher geschehen.

Nach der Vorbereitung der Kontrollen und Proben erfolgt die Entnahme und Sichtung der Fischeier. Die Laichschalen werden entnommen und die Eier eingesammelt und durchgesehen.

Dazu müssen die Eier unter dem Mikroskop gezählt und der Befruchtungsstatus der Eier überprüft werden. Mindestens 50 % der Fischeier müssen befruchtet sein. Sie sind daran zu erkennen, dass sich im Ei erste Zellen ausbilden. Für einen Test werden mindestens 100 Fischeier benötigt. Diese werden mit einem Sieblöffel in eine 100 ml, mit Verdünnungswasser gefüllte, Kristallisierschale überführt. Man muss besonders darauf achten, dass sich die Fischeier möglichst im gleichen Entwicklungsstadium befinden (zwischen 4 und 128 Zellen), nicht beschädigt sind und möglichst wenig Flüssigkeit mit überführt wird. Vor dem Übersetzen der Eier in die Kontrollen und Sedimentproben werden diese nochmals unter dem Mikroskop überprüft.

Jeweils 5 Eier werden in eine Schale gesetzt. Mit einer Eppendorfpipette bei einem Volumen von 1ml Verdünnungswasser werden die Eier vorsichtig in die Schalen der Negativkontrollen gegeben. Um das gleiche Volumen in allen Kontrollen zu erhalten, werden die Eier mit 815 µl Verdünnungswasser in die Positivkontrollen pipettiert, bevor auch jeweils 5 Eier in die Schalen der Proben gelangen. Alle Schalen werden wieder mit Parafilm verschlossen und für 48 Stunden in den Brutschrank bei 26 °C auf den Horizontalschüttler gestellt und mit einer Frequenz von 70 rpm geschüttelt. Das Schütteln bewirkt eine Durchmischung der Wasserschichten über dem Sediment, wobei die Schüttelbewegungen auch die Sauerstoffzufuhr verbessern sollen.

#### **48 Stunden nach Testbeginn / Auswertung**

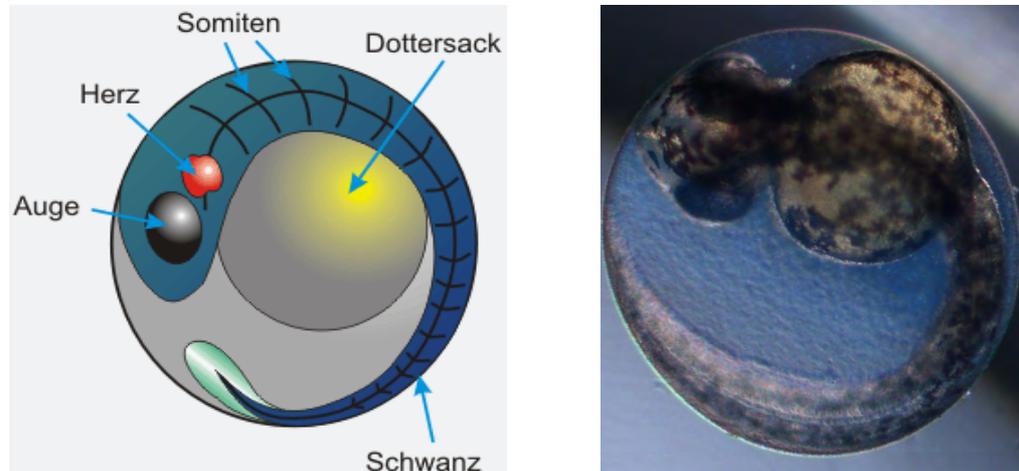


**Abbildung 2.13 24 - Well Platte zur Auswertung der Fischeier unter dem Mikroskop**

Nach 48 Stunden werden die 5 Embryonen aus ihren jeweiligen Schalen entnommen und mit einer Pasteurpipette in ein Well der 24 Well-Platte überführt (Abbildung 2.13). Es empfiehlt sich einen Belegungsplan des Wells anzufertigen, um die Fischembryonen auch später unter dem Mikroskop der richtigen Probe und Kontrolle zuzuordnen. Unter dem Inversmikroskop erfolgt die Auswertung. In Anlehnung an die DIN EN ISO 15088 – T6 müssen mindestens 90 % der Embryonen in der Probe überleben, damit diese als nicht toxisch gilt.

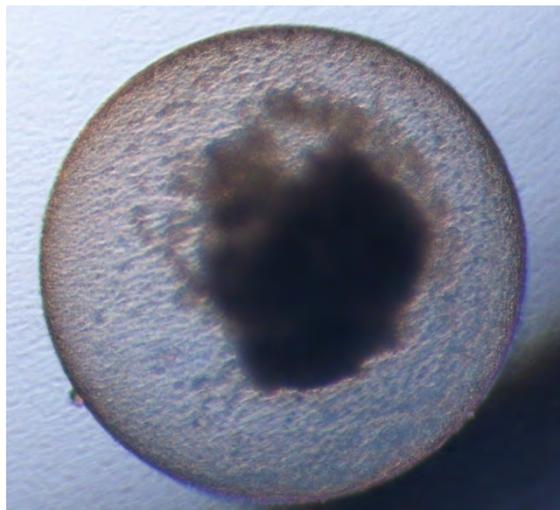
Protokolliert werden dieselben toxikologischen Endpunkte wie im Fischeitest. Unterschieden werden folgende Zustände:

- Normal entwickelter Keim  
Treten keine letalen oder nicht letalen Missbildungen auf, ist der Embryo normal entwickelt.



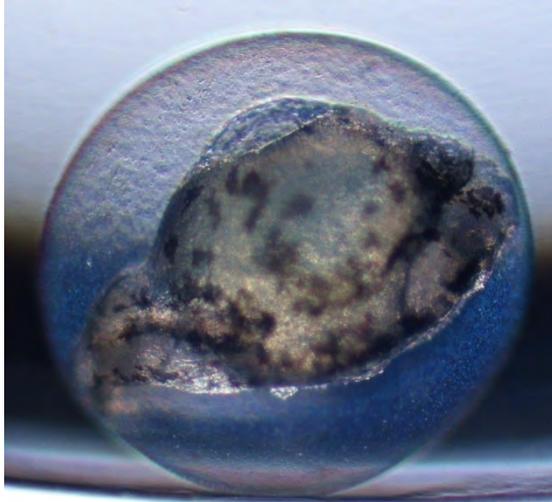
**Abbildung 2.14** Schematischer Aufbau eines Fischembryos und Embryo nach 48 Stunden (SOP Fischeitest, 2009)

- Koagulierter Keim (letal)  
Koagulation ist die Gerinnung oder Zerstörung von Eiweißen. Koagulierte Eier sind teilweise oder vollständig undurchsichtig, die charakteristische Entwicklung der Zellanlagen ist nicht zu erkennen und unter dem Mikroskop erscheint ihr Abbild dunkel.



**Abbildung 2.15** Koagulierter Keim

- Keine Schwanzablösung (letal)  
Der Schwanz muss sich klar vom Dottersack abgesetzt haben. Je nach Entwicklungsstadium schreitet die Schwanzablösung weiter voran.

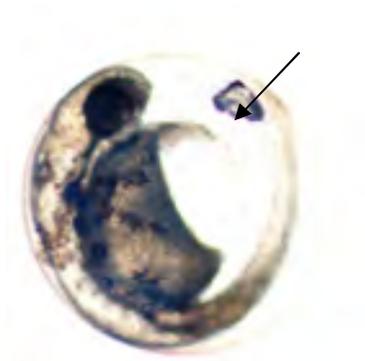


**Abbildung 2.16 Deformierter Embryo**

- Kein Herzschlag (letal)  
Wenn innerhalb von 30 Sekunden Beobachtungszeit kein Herzschlag feststellbar ist, gilt der Embryo als tot. Der Blutkreislauf ist an den Herzschlag gekoppelt. Wenn der Herzschlag bei ungünstiger Lage des Embryos schlecht einsehbar ist, kann auch ein funktionierender Blutkreislauf als Kriterium herangezogen werden.

Nicht letale Missbildungen werden nach DIN nicht berücksichtigt, unterscheiden lassen sich:

- Keine Spontanbewegung
- Ödem (Abbildung 2.17)
- Fehlen der Pigmentierung (Abbildung 2.18)
- Fehlen der Augenanlagen
- Wirbelsäulenverkrümmungen
- Allgemeine Deformationen
- Verlangsamter Herzschlag



**Abbildung 2.17** Embryo mit Herzödem (Pfeil) (Raasch, 2011)



**Abbildung 2.18** Embryo ohne pigmentierte Augen und mit einem verdicktem Schwanz (Raasch, 2011)

Identisch zur DIN EN ISO 15088 – T6 sind die angegebenen Gültigkeitskriterien, nach denen

- mindestens 90 % der Embryonen in den Negativkontrollen normal entwickelt sein müssen und
- in den Positivkontrollen bei mehr als 10 % der Embryonen letale Effekte auftreten müssen.

## 2.9 Versuchsdurchführung

### 2.9.1 Einfluss der Schüttelfrequenz auf die Fischeibryonen

Die ersten Voruntersuchungen zum Fischei-Sedimentkontakttest wurden nur mit Quarzsand durchgeführt, um den Einfluss der Schüttelfrequenz auf die Fischeier zu testen. Sie entsprechen dem vorgestellten Ablauf des Fischei-Sedimentkontakttests in Kapitel 2.8. Statt der Schwebstoffproben wurden vier weitere negative Quarzsandkontrollen getestet, um die Anzahl der Kontrollen zu erhöhen und damit das Handling mit der nötigen Anzahl an Schalen für spätere Versuche erlernt werden konnte.

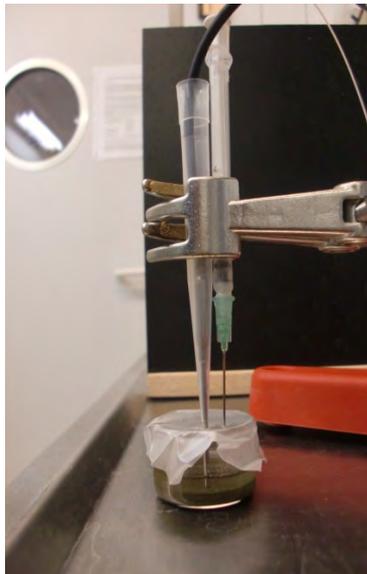
Dazu wurde der Bereich zwischen 60 bis 110 rpm untersucht. Bei einem Versuch bildeten jeweils 40 Eier die Negativkontrollen auf dem Quarzsand, die Aufschluss auf die Fragestellung geben. Die Anzahl der eingesetzten Fischeier minimierte sich teilweise auf 38 oder 39, wenn nicht alle Fischeier wiedergefunden werden konnten.

Je 20 Eier liefen als wässrige Positivkontrolle, als Positivkontrolle auf Quarzsand und in Form der wässrigen Negativkontrolle mit. Alle Proben standen auf dem Schüttler.

### 2.9.2 Kontinuierliche Sauerstoffmessungen

Die Sauerstoffmessungen fanden ohne die Zugabe von Fischeiern statt, es wurde lediglich der Verlauf der Sauerstoffkonzentration untersucht.

Für die Sauerstoffmessungen wurden  $3 \text{ g} \pm 0,03 \text{ g}$  der Schwebstoffprobe in eine 20 ml Kristallisierschale eingewogen und mit Parafilm verschlossen. Je nach Schwebstoff unterschied sich die Zugabe von Verdünnungswasser aufgrund der Wasseraufnahmefähigkeit des Sediments und der Sättigung (Kapitel 2.5.1). Nach der Sättigung sollten noch circa 2 ml Verdünnungswasser zugegeben werden.



**Abbildung 2.19** Temperatur- und Sauerstoffmessung im Überstandswasser des Schwebstoffs Bunthaus aus dem Monat März

Zunächst wurde der Verlauf der Sauerstoffverhältnisse im Überstandswasser direkt über dem Sediment mit Hilfe von kontinuierlichen Messungen ohne Schüttler mit der Mikrosonde bei  $26^{\circ}\text{C}$  dokumentiert. Diese Messungen wurden im temperaturgeregelten Fischlabor durchgeführt (Abbildung 2.19). Die Temperatur im Fischlabor wird mit einem Datalogger dokumentiert. Damit das Verdünnungswasser nicht verdunstete, wurden nur zwei kleine Löcher in den Parafilm gestochen, sodass die Sauerstoff- und Temperatursonde hindurch passten.

Kontinuierliche Messungen wurden nur mit den Schwebstoffen des Monats März aus Seemannshöft und Bunthaus durchgeführt.

Beide Schwebstoffe wurden jeweils zweimal überprüft, dabei erstreckte sich die Messung über mindestens 48 Stunden und die Mikrosonde hat den Sauerstoffgehalt sekundlich gemessen.

### 2.9.3 Erhöhung der Schüttelfrequenz zur Verbesserung der Sauerstoffkonzentration

Eine Möglichkeit, die Sauerstoffkonzentration im Überstandswasser zu erhöhen, bietet der Eintrag von Sauerstoff aus der Luft in die wässrige Lösung. Ermöglicht wird dies durch ein bewegtes System, wie beispielsweise den verwendeten Horizontalschüttler. Die Kinetik des Sauerstoffeintrags nimmt im Vergleich zu einem unbewegten System stark zu. Veränderbarer Parameter ist die Schüttelfrequenz, die in rpm gemessen wird. Ferner ist die Oberfläche, an der die Diffusion stattfindet, ein Parameter. Je größer die Oberfläche, desto mehr Sauerstoff kann aus der Luft in die wässrige Phase diffundieren. Das Schütteln sorgt neben dem Sauerstoffeintrag außerdem für eine Wasserbewegung, bei der die sauerstoffarme Wasserphase direkt über dem Sediment mit der übrigen Wasserphase durchmischt wird (Eldridge & Morse, 2008).

#### 2.9.3.1 Sauerstoffmessung bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm

Versuche, bei denen ein Horizontalschüttler verwendet wurde und Sauerstoffmessungen durchgeführt wurden, konnten nicht kontinuierlich stattfinden, da die empfindliche Sonde nicht während des Schüttelns messen kann und sie außerdem nicht mit Schüttler in den Brutschrank passen würde. Daher steht nur der Horizontalschüttler im Kühlkubator, der auf 26 °C temperiert ist. Die Schüttelfrequenz des Horizontalschüttlers betrug in allen Versuchen zur Sauerstoffmessung 80 rpm. Alle zu messenden Sedimente befanden sich mit Parafilm abgedeckt



**Abbildung 2.20** Sauerstoffsonde (rechts) bei der Messung über dem Schwebstoff Seemannshöft aus dem Monat März

auf dem Horizontalschüttler im Brutschrank, sofern sie nicht zur Messung benötigt wurden. Zu Beginn und darauffolgend in regelmäßigen Abständen sind sie für die Messung herausgeholt worden und der Parafilm wurde für die Sauerstoffmessung kurz abgedeckt (Abbildung 2.20). Vorsichtig ist die Sonde so weit aus der Spritze herausgefahren worden, bis sie den Sauerstoffgehalt direkt über dem Sediment messen konnte. Sobald die Messung erfolgt war, wurde die Schale wieder mit dem Parafilm verschlossen und in den Brutschrank gestellt. Nacheinander wurden alle Schalen gemessen und die Werte im Protokoll notiert. Je nach Versuch betragen die Messintervalle zwischen 15 Minuten und 2 Stunden. Die gesamte Messung erstreckte sich bei dichteren

Messintervallen über 8 Stunden bis hin zu 48 Stunden. Damit der komplette Verlauf der Sauerstoffkonzentration über 48 Stunden betrachtet werden kann, wurden die Messungen jeweils 12 Stunden zeitversetzt gestartet. Zuerst wurden die ersten 12 Stunden gemessen, danach wurde eine weitere Probe angesetzt und über Nacht für 12 Stunden in den Brutschrank gestellt. 24 Stunden nach Start der Messung konnte dann das Messintervall zwischen 24 bis 36 Stunden untersucht werden und gleichzeitig der Bereich von 12 bis 24 Stunden bei der Probe, die 12 Stunden nach der ersten Probe angesetzt worden war. Analog dazu erfolgte die Messung des Bereichs von 36 bis 48 Stunden nach Überschichtung des Schwebstoffs mit Verdünnungswasser.

Die Sauerstoffkonzentration der März-Schwebstoffe aus Seemannshöft und Bunthaus wurde über einen Zeitraum von 8 Stunden bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm mit einem Messabstand zwischen den einzelnen Sauerstoffmessungen von 15 bis 30 Minuten untersucht.



**Abbildung 2.21** Schalen mit Kontrollen und der Schwebstoffprobe April aus Seemannshöft auf dem Horizontalschüttler bei 80 rpm

Dabei wurde der Versuch mit jedem Schwebstoff zweimal durchgeführt.

Bei gleicher Frequenz ist der Messzeitraum anschließend auf 48 Stunden verlängert worden und zusätzlich wurden Schwebstoffe des Monats April zu den Schwebstoffen des Monats März aus Seemannshöft und Bunthaus getestet. Auch hier wurde der jeweilige Schwebstoff zweimal untersucht. Sauerstoffmessungen ohne Fischeier mit

den Schwebstoffen des Monats Mai wurden nicht durchgeführt, da die Gefriertrocknung dieser Proben, aufgrund der Priorität der Proben aus dem Hochwasser-Messprogramm, erst später erfolgen konnte. Auch mit den Hochwasserproben konnten im Rahmen der Bachelorarbeit keine separaten Sauerstoffmessungen ohne Fischeier mehr durchgeführt werden.

#### **2.9.4 Vorinkubation zur Verbesserung der Sauerstoffkonzentration**

Analog zu Versuchen, die mit dem Sediment des Flusses Basin (Sao Paulo, Brasilien) im Fischei-Sedimentkontakttest gemacht wurden, kann eine zusätzliche Verbesserung der Sauerstoffversorgung durch Vorinkubation erreicht werden. Dort wurde 72 Stunden vor dem Zugeben der Fischeier das Sediment mit Verdünnungswasser vermischt (Rocha et al., 2011).

Sauerstoffmessungen in der Wasserphase direkt über dem Sediment über einen längeren Zeitraum sollten zeigen, wo und wann sauerstoffzehrende Prozesse in diesem Bereich stattfinden. Wenn sich diese Prozesse nach einer gewissen Zeit einstellen oder vermindern,

sodass nachfolgend ein Mindestsauerstoffgehalt von 4 mg/L O<sub>2</sub> über den kompletten Testzeitraum von 48 Stunden sichergestellt werden kann, können die Fischeier ab diesem Zeitpunkt zum Sediment hinzugegeben werden.

Eine Vorinkubation der Schwebstoffproben wurde in allen Versuchen zur Toxizität vorgenommen. Am Tag vor Testbeginn wurden die Schwebstoffproben 24 Stunden vor dem Überführen der Eier mit Verdünnungswasser angesetzt, mit Parafilm verschlossen und über Nacht auf den Horizontalschüttler bei 80 rpm in den Kühlkubator gestellt. Die Schüttelfrequenz wurde von der ursprünglichen Frequenz aus der SOP (Raasch, 2011) von 70 rpm auf 80 rpm erhöht, um eine zusätzliche Verbesserung der Sauerstoffkonzentration zu erreichen. Die Vorinkubation fand mit den Schwebstoffen aus Seemannshöft und Bunthaus aus den Monaten März, April und Mai statt. Auf die gleiche Weise wurden die Schwebstoffproben des Hochwassers vom 11. und vom 13. Juni vorinkubiert. Zu jedem Test zählten vier Schalen mit jeweils fünf Fischeiern, sodass bei erfolgreichem Wiederfinden aller Eier 20 Fischeier ausgewertet werden konnten.

Zu Testbeginn, das heißt 24 Stunden nach Überschichten des Schwebstoffs mit Verdünnungswasser und dann wieder nach 48 Stunden bei Testende, wurde der Sauerstoffgehalt in der Wasserphase direkt über dem Schwebstoff bei den Proben gemessen und notiert.

### **2.9.5 Versuche zur Toxizität der Schwebstoffe**

Abschließend konnten nach Modifikation verschiedener Versuchsbedingungen die Schwebstoffe aus Seemannshöft und aus Bunthaus, sowie die zwei Schwebstoffproben aus dem Hochwassermessprogramm exemplarisch im Fischei-Sedimentkontakttest auf ihre Toxizität getestet werden. Die Versuche fanden mit einer Vorinkubation von 24 Stunden und bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm statt. In jede der vier Schalen mit Testschwebstoff gelangten fünf Fischeier, die nach 48 Stunden zur Auswertung unter dem Mikroskop untersucht wurden. Die Sauerstoffkonzentration wurde durch je eine Messung kurz vor Überführen der Fischeier und nach Testende dokumentiert.

### 3. Ergebnisse und Auswertung

#### 3.1 Chemische und physikalische Eigenschaften der Schwebstoffe

##### 3.1.1 Bestimmung des Trockenrückstandes und der Verdünnungswasser-Zugabe der Mai-Schwebstoffe

Aus den Einwaagen der Schwebstoffe vor und nach dem Gefriertrocknen lässt sich der Trockenrückstand bestimmen, die eingewogenen Massen sind in Tabelle 3.1 dargestellt.

**Tabelle 3.1 Einwaage Trockenrückstand Schwebstoffe Seemannshöft und Bunthaus aus dem Monat Mai**

		<b>Bunthaus</b>	<b>Seemannshöft</b>
Einwaage leere Schale + Sieb [g]	$m_a$	556,2	660,68
Einwaage vor Trocknung [g]	$m_b$	951,8	1538,9
Einwaage nach Trocknung [g]	$m_c$	638,14	1010,08
<b>Trockenrückstand [%]</b>	<b><math>T_{RS}</math></b>	<b>20,71</b>	<b>39,78</b>

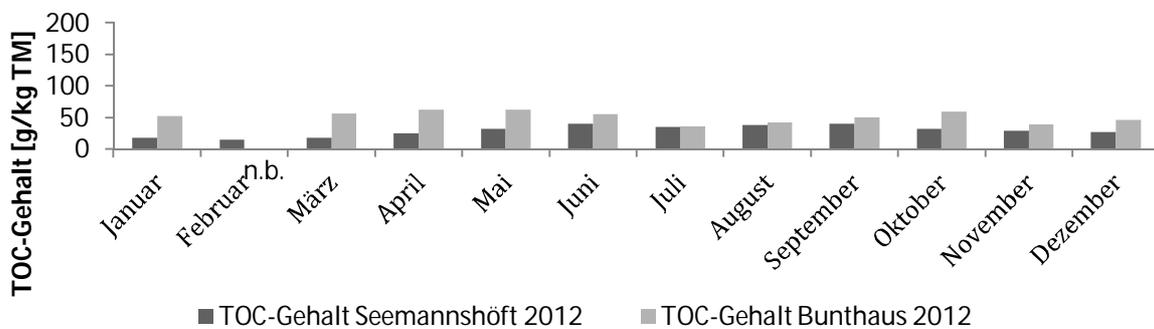
Um den gleichen Wassergehalt wiederherzustellen, wie er in der genommenen Schwebstoffprobe des Monats Mai vorherrschte, müssten circa 11,5 ml Verdünnungswasser in den Schwebstoff aus Bunthaus und circa 4,5 ml Verdünnungswasser in den Schwebstoff aus Seemannshöft hinzugefügt werden (Tabelle 3.2). Es sollten nach Wiederherstellung des ursprünglichen Wassergehalts und der Sättigung noch weitere 2 ml hinzukommen. Das Gesamtvolumen würde demnach 13,5 ml Verdünnungswasser für Bunthaus und 6,5 ml Verdünnungswasser für Seemannshöft betragen. Wie in Tabelle 3.14 und Tabelle 3.17 ersichtlich, wurden bei Seemannshöft eben diese 6,5 ml hinzugefügt, bei Bunthaus insgesamt nur 12 ml Verdünnungswasser. Aufgrund der kleinen Kristallisierschalen (20 ml) und dem dennoch großem Volumen an Überstandswasser reichten 12 ml jedoch aus. Darüber hinaus kann die Sonde nicht beliebig weit aus der Spritze herausgefahren werden, da die Spritze sonst mit der Probe kontaminiert wird und es zu schnellerer Alterung kommen kann.

**Tabelle 3.2 Bestimmung Zugabe von Verdünnungswasser bei 3g Schwebstoff aus dem Monat Mai**

	<b>Bunthaus</b>	<b>Seemannshöft</b>
Schwebstoff vor Gefriertrocknung [g]	395,6	878,22
Schwebstoff nach Gefriertrocknung [g]	81,94	349,4
Wassergehalt [g]	313,66	528,82
Wassergehalt [%]	79,29	60,22
Zugabe Wasser pro g Feststoff [ml]	3,82	1,51
<b>Zugabe Wassergehalt pro 3g Feststoff [ml]</b>	<b>11,48</b>	<b>4,54</b>
<b>Plausibilitätsprüfung</b>	<b>3g <math>\approx</math> ca. 20 %</b>	<b>3g <math>\approx</math> ca. 40 %</b>
	<b>80 % <math>\approx</math> ca. 12 ml</b>	<b>60 % <math>\approx</math> ca. 4,5 ml</b>

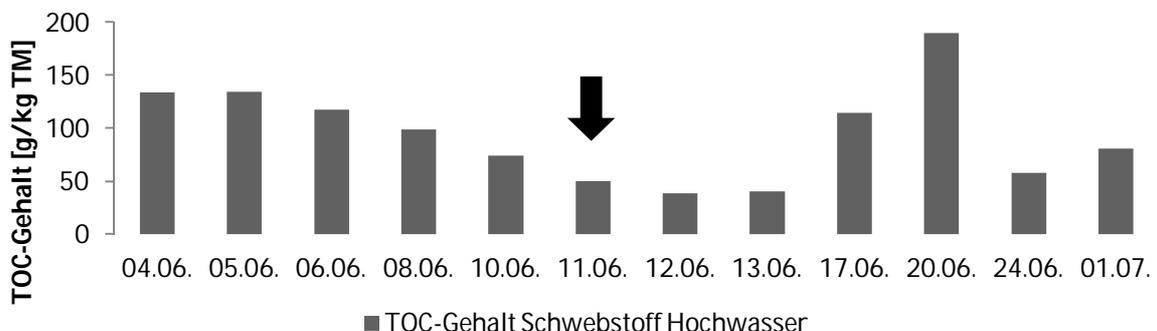
### 3.1.2 Analytikdaten

Da der TOC-Gehalt für die Proben aus dem Jahr 2013 zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit leider noch nicht vorlag, wurde ein Vergleich mit den Werten aus 2012 vorgenommen. Vorliegende Daten des TOC-Gehalts der Schwebstoffe aus Seemannshöft und Bunthaus 2012 zeigten folgende Entwicklung der einzelnen Monatswerte, wobei der Gehalt von Februar bei Bunthaus nicht bestimmt wurde. Schwebstoffe aus Bunthaus haben stets einen höheren Gehalt an gebunden organischen Kohlenstoffen als Schwebstoffe aus den Sedimentationsbecken Seemannshöft. Während Bunthaus von Dezember bis Juni bei einem Gehalt von etwa 50-60 g/kg TM lag, stieg der Gehalt bei Seemannshöft über das Frühjahr bis zum Sommer an und fiel erst im Herbst wieder leicht ab. Der TOC-Gehalt variierte bei Seemannshöft zwischen circa 15 bis 40 g/kg TM über das Jahr 2012, der Bereich bei Bunthaus erstreckte sich von etwa 36 bis maximal 63 g/kg TM. Die einzelnen Gehalte sind im Anhang I aufgeführt.



**Abbildung 3.1 TOC-Gehalt in den Schwebstoffen Seemannshöft und Bunthaus aus Monatsproben 2012 n.b. nicht bestimmt**

Die Einzelwerte des TOC-Gehalts in den Schwebstoffproben während des Hochwassers sind in der Abbildung 3.2 dargestellt. Sie liegen alle über den Werten, die normalerweise an dieser Stelle bei Seemannshöft gemessen werden. Im Laufe der ersten Tage nahm der TOC bis zum 12.06. stetig ab, ehe er bis zur höchsten Konzentration am 20.6.2013 mit knapp 200 g/kg TM wieder mit ablaufendem Hochwasser anstieg. Zwei weitere Messungen am 24.06. und 1.7. lagen bei 60-80 g/kg TM und näherten sich somit wieder den Normalwerten.



**Abbildung 3.2 TOC-Gehalt im Schwebstoff des Hochwassers bei Seemannshöft zwischen dem 04.06. und 01.07.2013 (Pfeil Hochwasserscheitel)**

Eine Ergebnis-Auswahl der analysierten Schwermetalle, dem Weichmacher DEHP und Pentachlorphenol von den Schwebstoffen aus den Monaten März und April aus Bunthaus und Seemannshöft ist in Tabelle 3.3 aufgeführt. Verglichen mit den vorhandenen Hintergrundwerten (HGW) aus dem Länder-Mess-Netz und Grenzwerten (GW) aus Anhang 4 und 5 der Oberflächengewässerverordnung - OGeV (OGeV, 2011), sowie den Bestimmungsgrenzen (BG) zeigte sich, dass alle vorgegeben Bestimmungsgrenzen eingehalten wurden. Bei allen Schwermetallen (Arsen, Blei, Cadmium, Chrom, Kupfer, Nickel, Quecksilber und Zink) aus Tabelle 3.3 hatten die Schwebstoffe aus Bunthaus in nahezu jedem Fall einen doppelt so hohen Gehalt im Vergleich zu den Schwebstoffen aus Seemannshöft. Die Konzentrationen aus Seemannshöft näherten sich den Hintergrundwerten an, mit Ausnahme der Werte von Cadmium, Chrom, Quecksilber und Zink, wobei hier die teilweise vorhandenen Grenzwerte eingehalten wurden. Die Ergebnisse von DEHP und Pentachlorphenol waren alle nahe der jeweiligen Bestimmungsgrenze. Alle Analysedaten sind im Anhang I zu finden. Bei Abschluss der Bachelorarbeit lagen jedoch noch nicht alle Analyse-Ergebnisse vor.

**Tabelle 3.3 Auswahl der Analytikdaten der Spurenelemente aus Bunthaus (BU) und Seemannshöft (SH) jeweils Schwebstoffe aus der Monatsprobe März und April**

Parameter	Einheit	Norm	HGW <sup>1</sup>	BG <sup>2</sup>	GW <sup>3</sup>	SH März	SH April	BU März	BU April
<b>Arsen</b>	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	10	1	40	10	11	20	21
<b>Blei</b>	mg/kg TM		25	4		22	28	59	62
<b>Cadmium</b>	mg/kg TM		0,3	0,1		1,1	1,5	3,4	3,5
<b>Chrom</b>	mg/kg TM		80	2	640	23	26	47	42
<b>Kupfer</b>	mg/kg TM		20	2	160	30	35	65	65
<b>Nickel</b>	mg/kg TM		30	2		13	16	30	28
<b>Quecksilber</b>	mg/kg TM	DIN EN ISO 17294-2 E29 (2005)	0,2	0,1		0,64	0,8	1,9	1,5
<b>Zink</b>	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	100	2	800	230	280	580	630
<b>DEHP</b>	µg/kg TM	DIN EN ISO 18856:2004 F26		250		<250	400	<250	370
<b>Pentachlor- phenol</b>	µg/kg TM	Hausmethode		0,25		0,29	0,38	0,54	0,65

<sup>1</sup> Hintergrundwerte (HGW) laut Bund-Länder-Messprogramm (Michelsen, 2008)

<sup>2</sup> Bestimmungsgrenze (BG) laut HU und

[http://www.umweltdaten.landsh.de/nuis/wafis/seen/chemie\\_sedimente.pdf](http://www.umweltdaten.landsh.de/nuis/wafis/seen/chemie_sedimente.pdf)

<sup>3</sup> vorhandene Grenzwerte aus Anlage 4 und 5 der Oberflächengewässerverordnung (2011)

## **3.2 Einfluss der Schüttelfrequenz auf die Fischembryonen**

Damit sich eine Schädigung der Embryonen durch eine zu hohe Schüttelfrequenz und das Reiben auf dem Quarzsand bzw. Sediment ausschließen lässt, werden im Folgenden die Ergebnisse der Negativkontrollen auf Quarzsand bei verschiedenen Schüttelfrequenzen vorgestellt. Die Mortalität errechnete sich aus der Anzahl der Fischeier mit letalen Effekten, bezogen auf die Anzahl der wiedergefundenen Eier.

Die Gültigkeitskriterien der DIN EN ISO 15088 – T6 für die entsprechenden Positiv- und Negativkontrollen wurden alle eingehalten, sofern nicht anders erläutert. Die Positiv- und Negativkontrollen zeigten keinerlei Auffälligkeiten. Die Mortalitäten der Positivkontrolle waren höher als sie eigentlich sein müssten (erwartet wird ein Wert von  $LC_{50}$ ). Alle Versuchsprotokolle sind im Anhang III angefügt.

### **3.2.1 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 60 rpm**

Bei einer Schüttelfrequenz von 60 rpm zeigte ein Embryo letale Schädigungen, dies entspricht bei 39 wiedergefundenen Fischeiern einer Mortalität von 2,6 % und somit waren die Gültigkeitskriterien (Mortalität  $\leq 10$  %) erfüllt und es lag keine Schädigung der Fischeier bei der Frequenz von 60 rpm vor. Im Auszug aus dem Protokoll (Anhang III) lassen sich die Effekte auf die Embryonen nach 48 Stunden ablesen.

### **3.2.2 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 70 rpm**

Die Schüttelfrequenz von 70 rpm führte zu keinen Schädigungen der Fischeier. Die Mortalität der Embryonen auf dem Quarzsand lag bei 0 % (Anhang III).

Vor allem Embryonen aus den Eiern, die auf dem Quarzsand lagen (Negativkontrollen), waren geschlüpft. Hier waren 15 von 39 Embryonen geschlüpft, dies entspricht 38,5 %.

### **3.2.3 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm**

Bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm zeigte sich eine Mortalität von 5 % (Anhang III). Die Schlüpftrate der Embryonen wurde nicht dokumentiert.

### **3.2.4 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 90 rpm**

Die Fischeier entwickelten sich bei 90 rpm alle normal, ihre Mortalität lag bei 0 % (Anhang III). Geschlüpft waren vor allem Fischembryonen in der wässrigen Kontrolle, bei den auf dem Quarzsand liegenden lediglich vier von 38. In der Positivkontrolle war die Mortalität mit 100 % sehr hoch.

### **3.2.5 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 100 rpm**

Auch bei 100 rpm waren noch keine signifikanten Auswirkungen auf die Fischer festzustellen. Drei der 40 Fischeier waren koaguliert, dies entspricht einer Mortalität von 7,5 % (Anhang III). Die steigende Frequenz führte dazu, dass es schwierig war, die Fischeier zur Sichtung nach 48 Stunden wiederzufinden, da sie zwischen die Körner des Quarzsandes gerutscht waren.

### **3.2.6 Auswirkungen bei einer Schüttelfrequenz von 110 rpm**

Die Mortalität von 10,3 % lag außerhalb der Gültigkeitskriterien ( $\leq 10\%$ ) für die Negativkontrolle mit Quarzsand. Vier von 39 Fischeiern waren koaguliert, die restlichen 35 entwickelten sich normal (Anhang III). Die Mortalität in der wässrigen Negativkontrollen war mit 21 % auch größer als 10 % und somit ebenfalls außerhalb der Gültigkeitskriterien (Anhang III). Wie bei dem Versuch mit 100 rpm gestaltete sich das Wiederfinden der Fischeier auf dem Quarzsand als schwierig, da diese teilweise in den Quarzsand eingesunken waren.

### 3.2.7 Vergleich des Einflusses unterschiedlicher Schüttelfrequenzen auf die Embryonalentwicklung

Die getestete Schüttelfrequenz lag im Bereich zwischen 60 und 110 rpm. Sie kann nicht beliebig erhöht werden, da die Embryonen sonst durch die Reibung auf dem Quarzsand bzw. dem Sediment geschädigt werden.

In den Quarzsandkontrollen wurden bei einer Schüttelfrequenz zwischen 60 und 100 rpm jeweils weniger als 10 % der Fischembryonen letal in ihrer Entwicklung beeinflusst.

Ab einer Schüttelfrequenz von 110 rpm zeigten mehr als 10 % der Fischeier Schädigungen oder waren koaguliert (Abbildung 3.3). Als geeignete Frequenz für folgende Fischei-Sedimentkontakttests wurde 80 rpm gewählt. Bei 70 rpm und 90 rpm betrug die Mortalität zwar jeweils 0 %, aber im Gegensatz zum Versuch mit 90 rpm konnten bei 80 rpm alle Embryonen wiedergefunden werden. Die erhöhte Frequenz könnte für den Misserfolg des Wiederfindens verantwortlich sein. Diese nichtgefundenen Embryonen könnten durch die erhöhte Frequenz verursacht worden sein. Die gewählte, niedrigere Frequenz von 80 rpm soll diesen Misserfolg ausschließen.

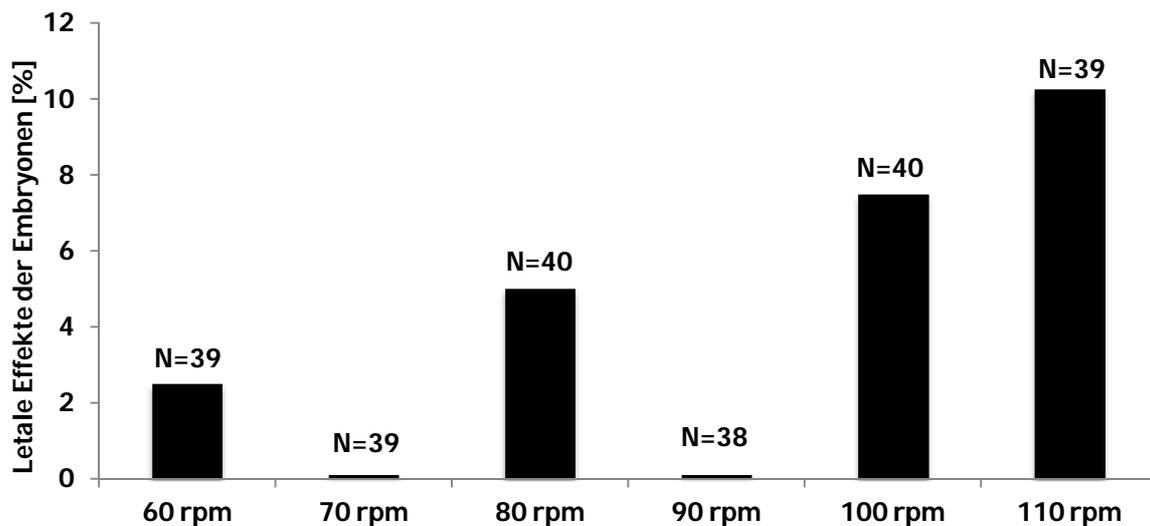


Abbildung 3.3 Letale Effekte der Schüttelfrequenzen bei den Negativ-Quarzsandkontrollen auf die Fischembryonen bei unterschiedlichen Frequenzen. N ist die Anzahl der ausgewerteten Fischeier

### 3.3 Kontinuierliche Sauerstoffmessung

Die Abbildung 3.4 zeigt die Entwicklung der Sauerstoffkonzentration über 48 Stunden in der Wasserphase direkt über dem Schwebstoff. Die Mikrosonde der Firma PreSens hat die Sauerstoffkonzentration sekundlich gemessen. In den ersten Stunden nahm die Konzentration in der Wasserphase über beiden Schwebstoffen vom März deutlich ab. Bei den Messungen mit den Schwebstoffen aus Bunthaus erreichte die Konzentration nach 6 bis 8 Stunden einen Wert unter 1 mg/L O<sub>2</sub>. Der Schwebstoff aus der Elbe bei Seemannshöft bewirkte einen ähnlichen Abfall in den ersten 12 Stunden auf 0 bis 2 mg/L O<sub>2</sub>.

Während die Konzentration über dem Schwebstoff aus Bunthaus bei einer Konzentration unter 1 mg/L stagnierte, stieg der Sauerstoffgehalt in der Wasserphase über dem Schwebstoff aus Seemannshöft nach circa 20 Stunden wieder an und stabilisierte sich zwischen 3 bis 4 mg/L O<sub>2</sub>.

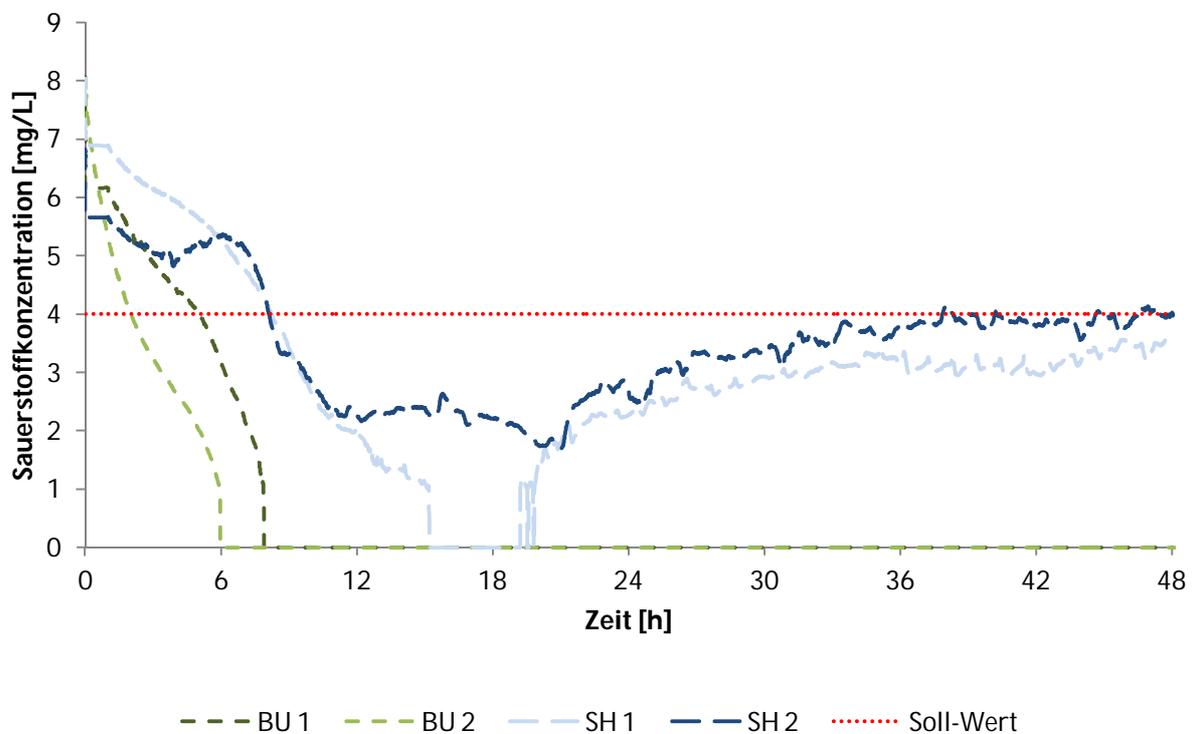


Abbildung 3.4 Kontinuierliche Sauerstoffmessung (sekundlich) in der Wasserphase direkt über den Schwebstoffen aus Bunthaus (BU) und Seemannshöft (SH) vom März 2013 über einen Zeitraum 48 Stunden bei 26 °C

### 3.4 Sauerstoffmessung bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm

#### 3.4.1 Entwicklung während der ersten 8 Stunden

Bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm sank die Sauerstoffkonzentration über beiden März-Schwebstoffen zu Testbeginn nicht mehr so stark ab und blieb während der ersten 8 Stunden deutlich über dem Soll-Wert von 4 mg/L O<sub>2</sub>. Dieser ist in rot in der Abbildung zu sehen (Abbildung 3.5). In grün und gestrichelt sind die Schwebstoffe aus Seemannshöft dargestellt. Über ihnen enthielt die Wasserphase über die gesamte Messdauer eine höhere Sauerstoffkonzentration als über dem Schwebstoff aus Bunthaus. Messungen mit Schwebstoffen aus Seemannshöft zeigten, dass sich dort nach einem anfänglichen Abfall die Konzentration in einem Bereich um 7 mg/L O<sub>2</sub> stabilisierte. Bei Bunthaus gab es dagegen deutliche Schwankungen innerhalb der gemessenen 8 Stunden.

Im Anhang IV finden sich alle Daten zur Messung, Kalibrierung und Einwaage.

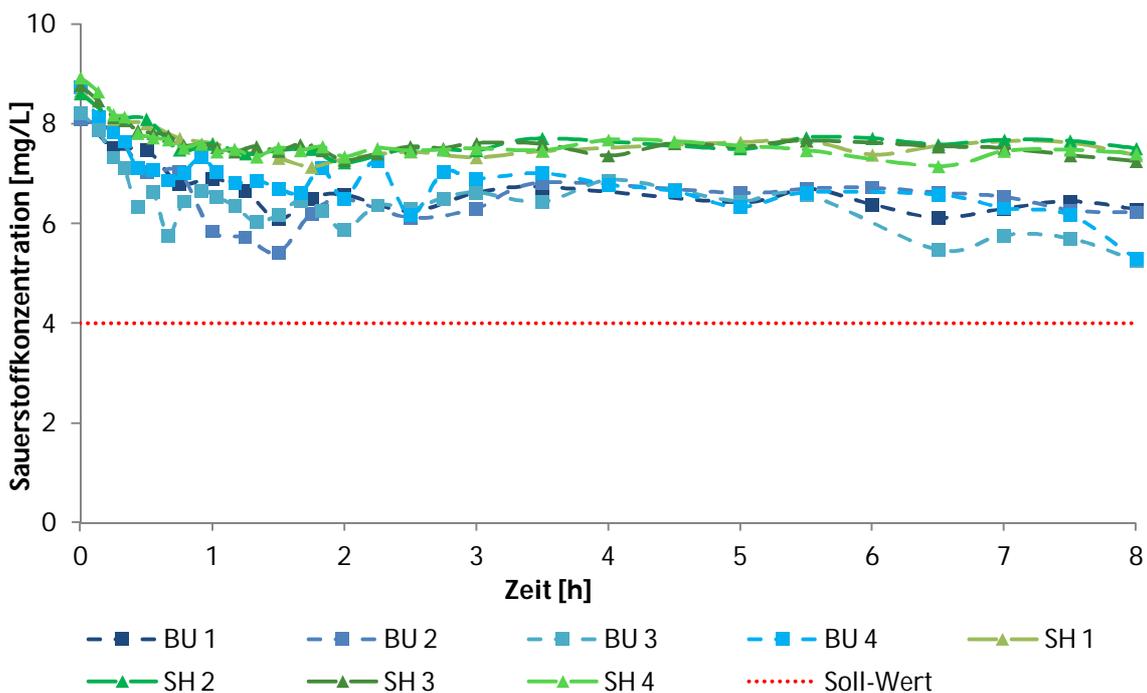


Abbildung 3.5 Sauerstoffkonzentration bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm über den März-Schwebstoffen aus Seemannshöft (SH) und Bunthaus (BU) innerhalb der ersten 8 Stunden bei 26 °C

### 3.4.2 Entwicklung während 48 Stunden

Der Messzeitraum wurde von 8 Stunden auf den Testzeitraum von 48 Stunden verlängert. Neben den Proben aus dem März wurden Schwebstoffproben aus April untersucht.

#### Schwebstoff Bunthaus

In blau sind die gemessenen Konzentrationen von vier Proben aus dem März in der Abbildung 3.6 dargestellt. Die aus dem April stammenden zwei Proben sind in violetter Linie zu sehen (Abbildung 3.6). Nachdem die Konzentrationen im Bereich der ersten Stunden noch über dem Soll-Wert von 4 mg/L lagen, fielen diese bei den Schwebstoffen aus beiden Monaten anschließend rapide ab. Deutlich ist zu erkennen, dass die Sauerstoffkonzentration der April-Proben auf fast 0 mg/L O<sub>2</sub> fiel und nicht wieder anstieg. Im Gegensatz dazu fielen die Sauerstoffkonzentrationen der März-Proben nach den ersten 8 Stunden auf Werte zwischen 1 und 3 mg/L. Im Anhang IV finden sich alle Messdaten zur Messung.

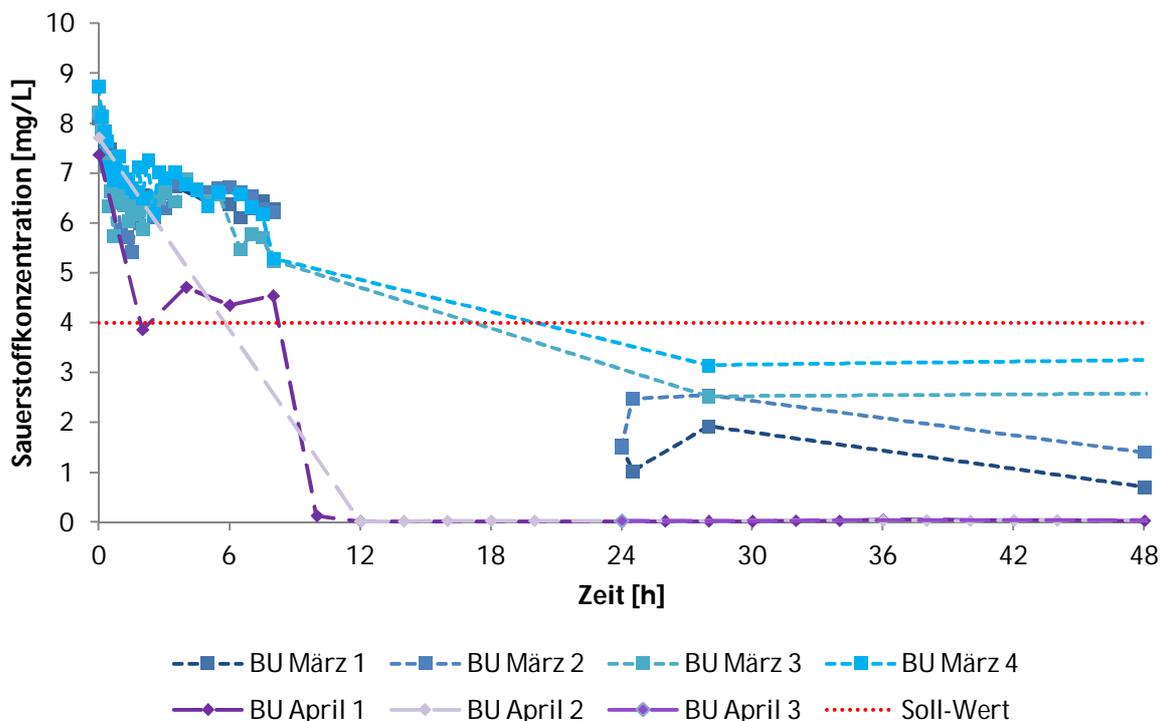


Abbildung 3.6 Gemessene Sauerstoffkonzentration im Überstandswasser bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm über den März- und April-Schwebstoffen aus Bunthaus (BU) über 48 Stunden bei 26 °C

### Schwebstoff Seemannshöft

Analog zu den Messungen der Schwebstoffe aus Bunthaus wurde die Sauerstoffentwicklung in der Wasserphase über den Schwebstoffen von März und April aus Seemannshöft analysiert.

Am Ende der Testdauer lagen sowohl die Werte bei den Proben von April sowie von März über der geforderten Sauerstoffkonzentration von 4 mg/L (Abbildung 3.7).

Nach einem Abfall der Sauerstoffkonzentration im Überstandswasser der April-Probe unter den Soll-Wert nach circa 10 Stunden auf 1 bis 3 mg/L O<sub>2</sub> regenerierte sich der Sauerstoffgehalt anschließend wieder und war nach 48 Stunden bei 4,8 mg/L O<sub>2</sub>, lag somit über der geforderten Mindestkonzentration (Abbildung 3.7). Bei den März-Schwebstoffen zeigt sich kein Abfall des Sauerstoffgehaltes über die Testdauer, sie bleiben stets deutlich über dem Soll-Wert von 4 mg/L O<sub>2</sub>. Im Anhang IV finden sich alle Messdaten zur Messung.

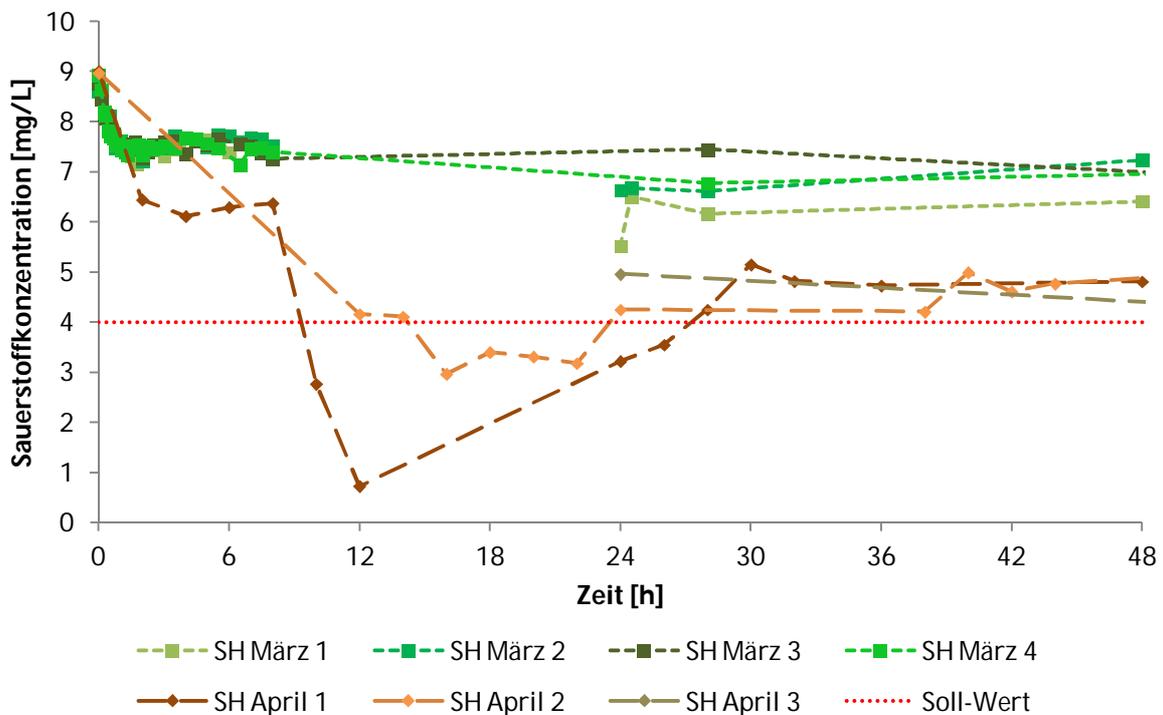


Abbildung 3.7 Gemessene Sauerstoffkonzentration im Überstandswasser bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm über den März- und April-Schwebstoffen aus Seemannshöft (SH) über 48 Stunden bei 26 °C

### 3.5 Vorinkubation zur Verbesserung der Sauerstoffkonzentration

#### 3.5.1 Schwebstoffe der Messstation Bunthaus

Die Sauerstoffkonzentration lag sowohl zu Testbeginn nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm als auch nach der Testdauer von 48 Stunden unter 4 mg/L O<sub>2</sub>. Lediglich in den zwei Proben vom März (Tabelle 3.4) zeigte sich eine Konzentration von circa 0,4 mg/L O<sub>2</sub> zu Beginn und von 1,68 und 1,78 mg/L O<sub>2</sub> am Ende der Testdauer. Alle anderen gemessenen Sauerstoffkonzentrationen lagen unter 0,2 mg/L O<sub>2</sub> (Tabelle 3.5 und 3.6). Verglichen mit den Sauerstoffkonzentrationen über 48 Stunden aus Kapitel 3.4.2, die ebenfalls auf 80 rpm geschüttelt wurden, sind die Werte etwas niedriger.

Die Sauerstoffkonzentrationen über den April-Schwebstoffen lag nach 24 Stunden Vorinkubation sowohl zu Testbeginn als auch bei Testende um 0 mg/L O<sub>2</sub>.

**Tabelle 3.4 Bunthauschwebstoffe von März nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C**

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L]Start	O <sub>2</sub> [mg/L]Ende
Bunthaus März	0,37	1,68
Bunthaus März	0,41	1,78
Bunthaus März	0,04	0,07
Bunthaus März	0,11	0,05

**Tabelle 3.5 Bunthauschwebstoffe von April nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C**

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L]Start	O <sub>2</sub> [mg/L]Ende
Bunthaus April	0,04	0,05
Bunthaus April	0,03	0,04
Bunthaus April	0,07	0,05
Bunthaus April	0,05	0,05

**Tabelle 3.6 Bunthauschwebstoffe von Mai nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C**

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L]Start	O <sub>2</sub> [mg/L]Ende
Bunthaus Mai	0,07	0,05
Bunthaus Mai	0,02	0,04
Bunthaus Mai	0,05	0,07
Bunthaus Mai	0,15	0,09

### 3.5.2 Schwebstoffe der Messstation Seemannshöft

Bei der Auswertung der Sauerstoffkonzentrationen nach 24 Stunden Vorinkubation mit den Schwebstoffen aus Seemannshöft von März zeigte sich, dass alle Messwerte über der geforderten Mindestsauerstoffkonzentration von 4 mg/L O<sub>2</sub> lagen (Tabelle 3.7). Sie überstiegen den Sollwert um ca. Δ 1,5 - 3 mg/L O<sub>2</sub>.

**Tabelle 3.7 Seemannshöftschwebstoffe von März nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C**

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L]Start	O <sub>2</sub> [mg/L]Ende
Seemannshöft März	5,45	6,82
Seemannshöft März	5,77	6,48
Seemannshöft März	6,15	7,01
Seemannshöft März	5,65	6,81

Die Sauerstoffkonzentrationen in der Wasserphase über den Schwebstoffen aus April erreichten zu Beginn nach 24 Stunden Vorinkubation nicht den geforderten Soll-Wert von 4 mg/L, fielen aber auch nicht unter eine Konzentration unter 3 mg/L O<sub>2</sub> (Tabelle 3.8). Zu Testende lag nur eine Sauerstoffkonzentration knapp unter dem Soll-Wert, alle anderen waren deutlich über diesem.

**Tabelle 3.8 Seemannshöftschwebstoffe von April nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C**

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L]Start	O <sub>2</sub> [mg/L]Ende
Seemannshöft April	3,11	5,16
Seemannshöft April	3,23	5,71
Seemannshöft April	3,61	5,60
Seemannshöft April	4,09	3,93

Der Sauerstoffgehalt im Überstandswasser der Schwebstoffe aus Mai lag in den Proben zu Beginn nach Vorinkubation deutlich unter den geforderten 4 mg/L O<sub>2</sub>, stieg bis zum Ende der 48 stündigen Testdauer auf Werte um 4 mg/L O<sub>2</sub> an (Tabelle 3.9).

**Tabelle 3.9 Seemannshöftschwebstoffe von Mai nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C**

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L]Start	O <sub>2</sub> [mg/L]Ende
Seemannshöft Mai	2,77	4,97
Seemannshöft Mai	2,11	3,88
Seemannshöft Mai	1,13	4,29
Seemannshöft Mai	1,25	4,44

### 3.5.3 Hochwasser Schwebstoffe

Die gemessenen Sauerstoffkonzentrationen waren nach 24 Stunden Vorinkubation und zu Testende 48 Stunden später alle deutlich unter dem Soll-Wert von 4 mg/L O<sub>2</sub> (Tabelle 3.10 und 3.11).

**Tabelle 3.10 Schwebstoffe der Hochwasserprobe vom 11.6. nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C**

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L]Start	O <sub>2</sub> [mg/L]Ende
Hochwasser 11.6.	0,15	0,08
Hochwasser 11.6.	0,18	0,06
Hochwasser 11.6.	0,16	0,05
Hochwasser 11.6.	0,01	0,05

**Tabelle 3.11 Schwebstoffe der Hochwasserprobe vom 13.6. nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm: Sauerstoffkonzentration Start und nach 48 Stunden bei 26 °C**

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L]Start	O <sub>2</sub> [mg/L]Ende
Hochwasser 13.6.	1,25	0,05
Hochwasser 13.6.	0,16	0,07
Hochwasser 13.6.	0,35	0,08
Hochwasser 13.6.	0,05	0,06

### 3.6 Versuche zur Toxizität der Schwebstoffe

#### 3.6.1 Schwebstoffe aus der Messstation Bunthaus

Im Sedimentkontakttest nach 24 Stunden Vorinkubation bei 80 rpm mit den Schwebstoffen aus Bunthaus betrug die Mortalität in allen Proben von März, April und Mai jeweils 100 % (Tabellen 3.12, 3.13, 3.14). Die Mortalität errechnete sich aus dem Quotient von der Anzahl der toten Eier, bezogen auf die Anzahl der wiedergefundenen Eier. Alle Fischeier waren koaguliert, zwei Beispiele zeigt Abbildung 3.8. Die Mortalitäten der Positiv- und Negativkontrollen entsprachen den Gültigkeitskriterien und befinden sich neben detaillierten Ergebnissen und den dazugehörigen Sauerstoffmesswerten im Anhang V.

**Tabelle 3.12 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Bunthaus aus dem Monat März bei 80 rpm und nach 24 Stunden Vorinkubation bei 26 °C**

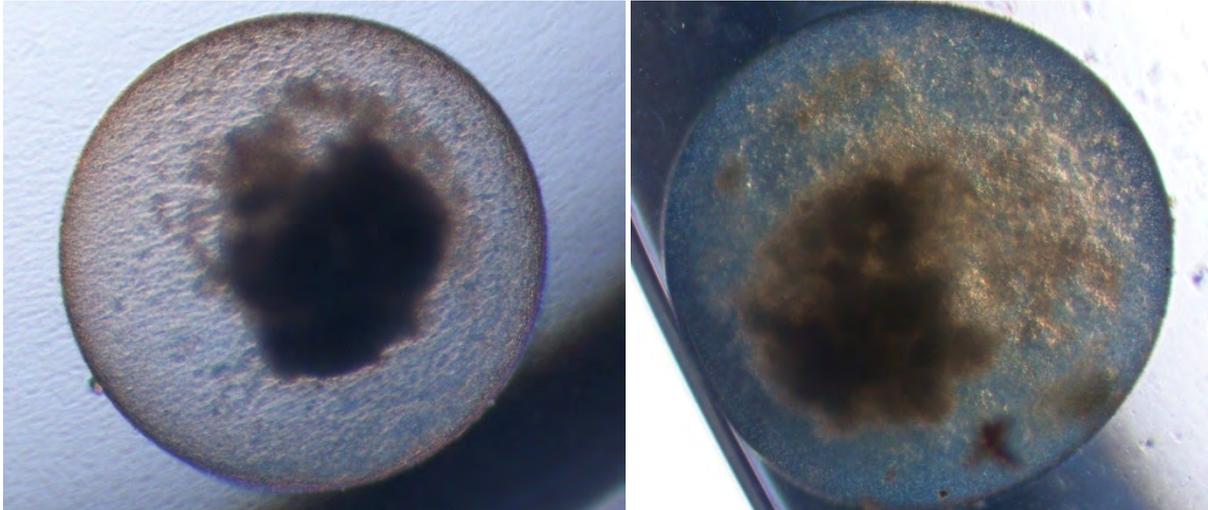
Probenbezeichnung	Einwaage in g	Volumen Verdünnungswasser in ml	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier
Bunthaus März	2,97	11	5/0/5
Bunthaus März	2,97	11	5/0/5
Bunthaus März	2,97	11	5/0/5
Bunthaus März	3,03	11	5/0/5
<b>Mortalität März 100 %</b>			

**Tabelle 3.13 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Bunthaus aus dem Monat April bei 80 rpm und nach 24 Stunden Vorinkubation bei 26 °C**

Probenbezeichnung	Einwaage in g	Volumen Verdünnungswasser in ml	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier
Bunthaus April	3,03	11	4/1/5
Bunthaus April	2,97	11	5/0/5
Bunthaus April	3,00	11	4/1/5
Bunthaus April	3,03	11	5/0/5
<b>Mortalität April 100 %</b>			

**Tabelle 3.14 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Bunthaus aus dem Monat Mai bei 80 rpm und nach 24 Stunden Vorinkubation bei 26 °C**

Probenbezeichnung	Einwaage in g	Volumen Verdünnungswasser in ml	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier
Bunthaus Mai	2,99	12	5/0/5
Bunthaus Mai	3,01	12	5/0/5
Bunthaus Mai	2,98	12	5/0/5
Bunthaus Mai	2,99	12	5/0/5
<b>Mortalität Mai 100 %</b>			



**Abbildung 3.8** Koagulierte Fischeier der Schwebstoffprobe aus Bunthaus des Monats April

### 3.6.2 Schwebstoffe aus der Messstation Seemannshöft

Der untersuchte Schwebstoff von März führte bei drei von 18 wiedergefundenen Fischembryonen zu einer Koagulation, die restlichen Embryonen entwickelten sich normal. Zwei Fischeier rutschten zwischen die feinen Schwebstoffkörner und konnten nicht wiedergefunden werden. Diese wurde nicht in die Mortalität mit eingerechnet. Mit den angewendeten Versuchsbedingungen zeigte der eingesetzte Schwebstoff eine Toxizität von 17 % gegenüber den Fischeiern (Tabelle 3.15).

Die Gültigkeitskriterien der DIN EN ISO 15088-T6 der Positiv- und Negativkontrollen wurden eingehalten, ausführliche Ergebnisse dazu befinden im Anhang V.

**Tabelle 3.15 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Seemannshöft aus dem Monat März bei 80 rpm und nach 24 Stunden Vorinkubation bei 26 °C**

Probenbezeichnung	Einwaage in g	Volumen Verdünnungswasser in ml	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier
Seemannshöft März	3,02	6	1/0/5
Seemannshöft März	3,03	6	1/1/5
Seemannshöft März	2,99	6	0/1/5
Seemannshöft März	3,00	6	1/0/5
<b>Mortalität März 17 %</b>			

Auf dem Schwebstoff aus dem Monat April koagulierten fünf von 20 Embryonen, was eine Mortalität von 25 % bedeutet (Tabelle 3.16).

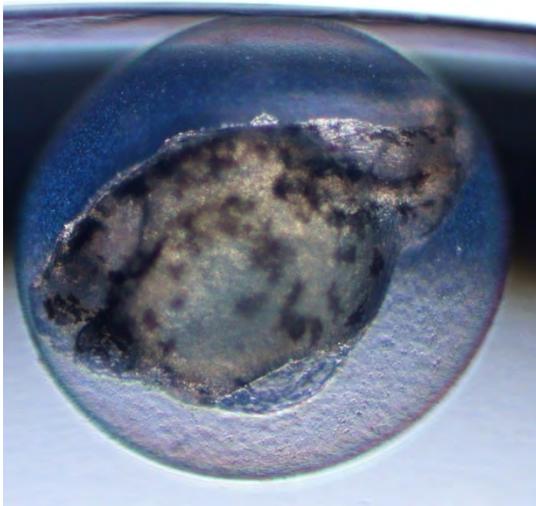
**Tabelle 3.16 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Seemannshöft aus dem Monat April bei 80 rpm und nach 24 Stunden Vorinkubation bei 26 °C**

Probenbezeichnung	Einwaage in g	Volumen Verdünnungswasser in ml	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier
Seemannshöft April	3,03	6	0/0/5
Seemannshöft April	3,03	6	3/0/5
Seemannshöft April	3,00	6	2/0/5
Seemannshöft April	3,02	6	0/0/5
<b>Mortalität April 25 %</b>			

Bei einem weiteren Sedimentkontakttest mit den Schwebstoffen aus Mai lag die Mortalität bei 65 % (Tabelle 3.17). Drei Fischeier waren koaguliert und acht zeigten letale Effekte, da bei allen Embryonen keine Schwanzablösung erfolgte und kein Herzschlag feststellbar war. Ein Embryo mit diesen Effekten ist in Abbildung 3.9 zu sehen. Drei Eier wurden nicht wiedergefunden und wurden daher nicht zur Bewertung hinzugezogen. Die dazugehörigen Kontrollen erfüllten die Gültigkeitskriterien und sind im Anhang V dargestellt.

**Tabelle 3.17 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen aus Seemannshöft aus dem Monat Mai bei 80 rpm und nach 24 Stunden Vorinkubation bei 26 °C**

Probenbezeichnung	Einwaage in g	Volumen Verdünnungswasser in ml	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier
Seemannshöft Mai	3,03	6,5	2/1/5
Seemannshöft Mai	2,97	6,5	2/1/5
Seemannshöft Mai	2,99	6,5	2/1/5
Seemannshöft Mai	3,01	6,5	5/0/5
<b>Mortalität Mai 65 %</b>			



**Abbildung 3.9 Embryo mit letalen Effekten aus der Schwebstoffprobe Seemannshöft Mai**

### 3.6.3 Hochwasser Schwebstoffe

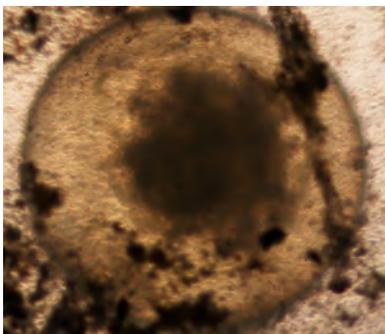
Die Mortalität betrug bei beiden Schwebstoffproben 100 %. Das Wiederfinden der Fischeier war äußerst schwierig, da das Verdünnungswasser von den feinen Schwebstoffpartikeln trüb gefärbt wurde (Tabellen 3.18, 3.19). Die Verfärbung wird durch Abbildung 3.10 verdeutlicht. Acht Fischeier konnten für die Auswertung nicht herangezogen werden, da sie nicht wiedergefunden wurden. Die Gültigkeitskriterien der Kontrollen wurden erfüllt und sind zusammen mit dem Sedimentkontakttest der Mai Schwebstoffe durchgeführt worden und mit den Sauerstoffmessungen im Anhang V dargestellt.

**Tabelle 3.18 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen der Hochwasserprobe am 11.6. bei 80 rpm und nach 24 Stunden Vorinkubation bei 26 °C**

Probenbezeichnung	Einwaage in g	Volumen Verdünnungswasser in ml	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier
Hochwasser 11.6.	2,98	10	5/0/5
Hochwasser 11.6.	2,99	10	3/2/5
Hochwasser 11.6.	2,97	10	2/3/5
Hochwasser 11.6.	3,03	10	3/2/5
<b>Mortalität 11.6. 100 %</b>			

**Tabelle 3.19 Sedimentkontakttest mit Schwebstoffen der Hochwasserprobe am 13.6. bei 80 rpm und nach 24 Stunden Vorinkubation bei 26 °C**

Probenbezeichnung	Einwaage in g	Volumen Verdünnungswasser in ml	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier
Hochwasser 13.6.	2,99	10	5/0/5
Hochwasser 13.6.	2,97	10	5/0/5
Hochwasser 13.6.	2,98	10	5/0/5
Hochwasser 13.6.	2,99	10	4/1/5
<b>Mortalität 13.6. 100 %</b>			



**Abbildung 3.10 Koaguliertes Fischei aus der Hochwasserprobe des 13.6.**

## 4. Diskussion

Der Fischei-Sedimentkontakttest wird auf einem Horizontalschüttler durchgeführt, damit sich die Wasserphase durchmischt. Die Fischeier liegen während des Tests auf einem mehr oder weniger sauerstoffzehrenden Sediment, ihre unmittelbar umgebende Wasserphase weist daher einen niedrigeren Sauerstoffgehalt als in den darüber liegenden Schichten der Wasserphase auf. Mit der zugeführten Bewegung wird eine bessere Sauerstoffversorgung der Fischeier angestrebt. Hollert & Zielke (2010) legten 50 rpm als Schüttelfrequenz am RWTH fest, Strecker wählte in seiner Studie 55 rpm (2008). Am HU legte Raasch (2011) nach ihren Versuchen in der SOP für den Test 70 rpm fest, erkannte dabei aber bereits die Problematik der starken Sauerstoffzehrung der Hamburger Sedimente. Sie untersuchte Sedimente aus der Alster und aus dem Jenfelder Moor, sowie Schwebstoffe aus der Elbe bei Bunthaus und Seemannshöft.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Schwebstoffe aus der Elbe unterschieden sich in ihrer sauerstoffzehrenden Eigenschaft. Schwebstoffe aus Bunthaus bauten den Sauerstoff in der darüber liegenden Wasserphase so stark ab, dass die Konzentration in kontinuierlichen Messungen ohne Schüttler auf nahezu 0 mg/L O<sub>2</sub> an der Grenzschicht von Schwebstoff zu Wasserphase sank. Schwebstoffe aus Seemannshöft zehrten dagegen weniger stark. Bei kontinuierlichen Messungen ohne Schüttler sank die Konzentration zu Testbeginn ebenfalls deutlich ab (auf 0 bis 2 mg/L O<sub>2</sub>), stieg nach rund 20 Stunden jedoch wieder merklich an (auf 3 bis 4 mg/L O<sub>2</sub>). Gleichzeitig unterschieden sich die Schwebstoffproben innerhalb des Probezeitraums (März, April und Mai) voneinander. Dabei zehrten die Schwebstoffe von April und Mai stärker als die März-Schwebstoffe. Während die Sauerstoffwerte für die Monate März, April und Mai mit Schwebstoffen aus Bunthaus trotz dieser Unterschiede aber nie die Mindestkonzentration von 4 mg/L erreichten, sondern auf fast 0 mg/L O<sub>2</sub> sanken, lag der Sauerstoffgehalt über den Schwebstoffen aus Seemannshöft teilweise über 4 mg/L. Abhängig vom jeweiligen Monat war die Zehrung also unterschiedlich stark ausgeprägt. Begründen kann man dies mit einem unterschiedlich hohen Anteil an organischer Substanz im Schwebstoff. Der Sauerstoffgehalt wird infolgedessen durch oxydative Abbauprozesse reduziert (Otubu et al., 2006). Als Anhaltspunkt für den organischen Anteil der Schwebstoffe kann der TOC-Gehalt genommen werden. Da der TOC-Gehalt für die Proben zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit leider noch nicht vorlag, wurde ein Vergleich mit den Werten aus 2012 vorgenommen. Schwebstoffe aus Bunthaus hatten 2012 generell einen höheren TOC-Gehalt und damit einen höheren organischen Anteil als Schwebstoffe aus Seemannshöft und zehren daher stärker. Auch hatten die Schwebstoffproben der einzelnen Monate im Jahr 2012 sehr unterschiedliche TOC-Gehalte, der TOC-Gehalt lag dabei in den Sommermonaten deutlich höher als im Winter oder zeitigen Frühjahr.

Die ebenfalls sehr starke Zehrung der Hochwasser-Schwebstoffe aus Seemannshöft, die zu Konzentrationen von beinahe 0 mg/L O<sub>2</sub> im Überstandswasser führte, erklärt sich mit dem vielfach höheren organischen Anteil als bei üblichem Wasserstand. Dabei entsprachen TOC-Gehalt und Sauerstoffzehrung der Hochwasserproben aus Seemannshöft ungefähr denen der Bunthaus-Schwebstoffe bei normalem Abfluss. Dennoch ist der TOC-Gehalt nur ein Anhaltspunkt, weitere Annahmen könnten nach Bestimmung des Glühverlustes gemacht werden.

Sauerstoffverbrauchende Abbauprozesse wirken sich negativ auf die Sauerstoffversorgung der Embryonen im Test aus. Für eine eindeutige Abgrenzung toxischer Effekte von Schädigungen der Fischembryonen aufgrund mangelnder Sauerstoffversorgung ist daher die Aufrechterhaltung eines Sauerstoffgehalts von mindestens 4 mg/L während der Testphase notwendig. Der Sollwert lehnt sich an die DIN 38415-T6 an und darf über die gesamte Testdauer nicht unterschritten werden. Braunbeck et al. (2005) beobachteten, dass bis zu 2 mg/L O<sub>2</sub> keine Fehlentwicklung der Embryonen erkennbar war. Dagegen stellten Küster & Altenburger (2008) Auswirkungen auf die Entwicklung fest, die schon bei leichter Unterschreitung des Soll-Werts deutlich wurden. Übereinstimmend mit Küster & Altenburger (2008) sind die Ergebnisse der am HU durchgeführten Versuche von Raasch (2011), die ebenfalls unterentwickelte Embryonen bei Unterschreitung der Mindestsauerstoffkonzentration von 4 mg/L vorfand.

Für einen zusätzlichen Sauerstoffeintrag aus der Luft sind Schüttelfrequenzen ab 200 rpm notwendig (Duetz & Witholt, 2001 und 2004). Eine schrittweise Erhöhung der ursprünglichen Schüttelfrequenz von 70 rpm aus der SOP von Raasch (2011) wurde in den Versuchen von Theel (2013) und in der vorliegenden Arbeit vorgenommen und belegen, dass die Frequenz nicht auf 200 rpm erhöht werden kann. Ab einer Schüttelfrequenz von 110 rpm traten in beiden Studien Fehlentwicklungen der Fischeier in den Quarzsandproben der Negativkontrollen auf. Mit steigender Schüttelfrequenz erhöht sich auch die Reibung der Eier auf dem Quarzsand, was einen negativen Effekt auf die Entwicklung zu Folge hat. Generell entspricht ein starkes Schütteln nicht der natürlichen Umgebung, da Zebrabärbling in stehenden oder langsam fließenden Gewässern vorkommen. Für die ebenfalls aufgetretenen Fehlentwicklungen in den wässrigen Negativkontrollen bei 110 rpm konnte keine Erklärung gefunden werden. Bei 90 rpm wurden bei Testende nicht alle Eier wiedergefunden, wodurch eine mögliche Fehleinschätzung bei der Auswertung einherging. Deshalb wurden die durchgeführten Kontakttests und Sauerstoffmessungen bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm durchgeführt, da bei dieser Frequenz ein Einfluss ausgeschlossen werden konnte. Da der Quarzsand gröber ist als die Schwebstoffe, sind die Aussagen darüber hinaus auch für die Schwebstoffe gültig.

Der Vergleich von kontinuierlichen Sauerstoffmessungen ohne Schüttler mit Sauerstoffmessungen bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm zeigt, dass die Sauerstoffversorgung durch

das Schütteln verbessert werden kann. Bei der Messung über den Schwebstoffen aus Seemannshöft wurden dadurch Konzentrationen über 4 mg/L nach 24 Stunden erreicht. Mit dem Schwebstoff vom März wurde diese Mindestkonzentration über den gesamten Testzeitraum von 48 Stunden eingehalten. Der April-Schwebstoff aus Seemannshöft führte nach anfänglichem Unterschreiten des Soll-Wertes in den ersten 24 Stunden zu einer Einhaltung von 4 mg/L O<sub>2</sub> in den folgenden 24 Stunden. Stärker zehrend waren hingegen die Schwebstoffe aus Bunthaus. Über dem Schwebstoff aus dem Monat März sanken die Konzentrationen bei 80 rpm innerhalb von 48 Stunden auf 1 bis 3 mg/L O<sub>2</sub> ab, auf fast 0 mg/L fiel der Sauerstoffgehalt über den April-Proben und stagnierte dort. Auch Theel (2013) konnte mit einer Erhöhung der Schüttelfrequenz die Sauerstoffversorgung in Kontakttests mit Sedimenten aus der Bille verbessern. Doch auch bei 90 rpm lag die Sauerstoffkonzentration in den ersten zwei Stunden noch unter dem Soll-Wert und stieg erst anschließend über 4 mg/L O<sub>2</sub> an.

Um schon zu Testbeginn die Mindestkonzentration von 4 mg/L im Überstandswasser zu erreichen, wurde zusätzlich zur Erhöhung der Schüttelfrequenz auf 80 rpm eine Vorinkubation des Schwebstoff-Überstandswasser-Gemisches vorgenommen. Diese Vorinkubation von 24 Stunden lehnte sich an Versuche von Rocha et al. (2011) an, die ihre Sedimente für 72 Stunden vorinkubierten. Die Länge der Vorinkubation kann demzufolge für unterschiedliche Sedimente variieren, je nach Stärke und Dauer ihrer Zehrung.

Die Sauerstoffmessung in den Versuchen zur Vorinkubation fand nur zu zwei Zeitpunkten statt, und zwar zu Beginn und am Ende der 24-stündigen Vorinkubation. Bei diesen Messungen wurden nach 24 Stunden Vorinkubation deutlich niedrigere Sauerstoffkonzentrationen im Überstandswasser festgestellt als nach 24 Stunden bei den Versuchen zum Sauerstoffeintrag nur durch erhöhte Schüttelfrequenz. Ursache für diese Unterschiede in den Werten ist, dass bei den Versuchen mit erhöhter Schüttelfrequenz die Messintervalle sehr kurz waren und dazu der Parafilm jedes Mal kurz entfernt wurde, was vermutlich für einen zusätzlichen Sauerstoffeintrag sorgte. Bei den Versuchen zur Vorinkubation wurde der Parafilm während der 24 Stunden nicht entfernt, es konnte also kein zusätzlicher Sauerstoffeintrag erfolgen, der die Messung verfälscht. In allen abschließend durchgeführten Kontakttests standen Sauerstoffkonzentrationen von unter 1 mg/L O<sub>2</sub> immer im Einklang mit einer hohen Mortalität von bis zu 100 %. Aufgrund dieser niedrigen Sauerstoffkonzentration, insbesondere in den Proben mit Schwebstoffen aus Bunthaus und den Hochwasserproben, lässt sich die Mortalität nicht eindeutig auf die Toxizität des Schwebstoffs zurückführen. Zwar können die Embryonen bis zu 24 Stunden unter vollständig anoxischen Bedingungen überleben (Padilla & Roth, 2001), stellen dabei aber ihre Entwicklung ein. Hält der Sauerstoffmangel länger an, wie die dokumentierten Sauerstoffverläufe zeigten, sterben die Embryonen ab und es lässt sich nicht mehr zweifelsfrei beurteilen, was die Letalität verursacht hat. Bei deutlichem Unterschreiten der geforderten

Sauerstoff-Mindestkonzentration kann ein solcher Test also nicht gewertet werden. Auch Raasch führte 2011 Sedimentkontakttests mit Schwebstoffen aus Bunthaus und Seemannshöft durch. Obwohl sich jedoch der Sauerstoffgehalt nahe am Schwellenwert von 4 mg/L bewegte, verursachten die Schwebstoffe eine 100 %ige Mortalität. Bei den Messungen von Raasch konnte allerdings mit der Sauerstoffsonde WTW Oxi 330 nicht an der Stelle gemessen werden, an der die Fischeier lagen, sodass die Mortalität auch durch zu niedrige, aber nicht erfasste Sauerstoffkonzentrationen verursacht worden sein könnte. Im Gegensatz dazu konnten im Rahmen dieser Arbeit die Testergebnisse von März und April aus Seemannshöft eindeutig gewertet werden. Der Sauerstoffgehalt lag im Überstandswasser über 4 mg/L O<sub>2</sub> oder nur geringfügig darunter. Dennoch überlebten weniger als 90 % der Embryonen und sie sind deshalb in Anlehnung an DIN 38415-6 (2001) mit einer Mortalität von 17 % (März) und 25 % (April) als toxisch einzustufen. Die Probe mit Schwebstoffen vom Mai lag zu Testbeginn, trotz Vorinkubation, unter der Mindestkonzentration von 4 mg/L, erreichten diese bei Testende jedoch. In dieser Probe wurden vorwiegend ein fehlender Herzschlag und keine Schwanzablösung als letale Effekte identifiziert. Auch Raasch (2011) und Strecker (2008) beobachteten einen Zusammenhang von unterentwickelten Embryonen bei leichter Unterschreitung der Mindestsauerstoffkonzentration. Im Fischei-Sedimentkontakttest sind die getesteten Schwebstoffe von März, April und Mai aus Seemannshöft also eindeutig als toxisch zu werten. Die toxischen Befunde aller getesteten Schwebstoffe aus Bunthaus und der Hochwasserproben lassen sich dagegen nicht von den Effekten, die durch Sauerstoffmangel verursacht wurden, abgrenzen.

Mit der Toxizitätsuntersuchung wird die Summe einer Vielzahl an toxischen Substanzen erfasst. Die wenigen vorliegenden Analytikdaten zu den getesteten Schwebstoffen zeigten keine großen Auffälligkeiten. Grenzwerte der Oberflächengewässerverordnung (OGewV) wurden eingehalten, die Konzentration von polybromierten Diphenylether, sowie des Weichmachers DEHP waren ebenfalls niedrig. Lediglich die Menge an Quecksilber lag mit 0,64 mg/kg TM und 0,8 mg/kg TM in der März- und Aprilprobe aus Seemannshöft über dem Hintergrundwert von 0,2 mg/kg TM (Michelsen, 2008). Ebenfalls wird der vom Bund-Länder-Messprogramm (Mleinek, 2012) geforderte obere Schwellenwert von 0,47 mg/kg TM gemäß Managementkonzept FGG Elbe übertroffen. Die Analysen der Elbeschwebstoffe zeigten, dass der Gehalt von Arsen, Cadmium, Quecksilber, DEHP und PCP stromaufwärts, also in Bunthaus (Flusskilometer: 609,8) höher waren als stromabwärts in Seemannshöft (Flusskilometer: 628,9). Mit monatlichen Sedimenttests bestätigten auch Hsu et al. (2007), dass kontaminierte Sedimente bei Oortkaten (nahe Bunthaus) die Elbe stromabwärts beeinflussen. Die Toxizität variierte hier auch mit der Tiefe der genommenen Sedimentprobe. Gleichzeitig wird das Benthos im Ästuarbereich der Elbe

durch toxische Sedimente belastet (Wetzel, 2013). Sedimente aus dem Hamburger Veringkanal (Elbe) werden im Rahmen des DanTox-Projekts untersucht. Im Vergleich zu den Sedimenten aus Altrip und Ehrenbreitstein (Rhein) ist das Hamburger Sediment stark belastet und weist sowohl genotoxisches Potential auf als auch eine dioxin-ähnliche Wirksamkeit (Garcia-Kaeufer et al., 2012). Ducharme et al. (2013) untersuchten die Toxizität von 133 Chemikalien in Bezug auf die Entwicklung von Zebrabärblingen. Bei 16 Substanzen fanden sie Übereinstimmungen mit Untersuchungen von Padilla et al. (2012), diese Substanzen wurden in dieser Arbeit allerdings nicht untersucht.

Für eine ausführliche Diskussion der Analytikdaten fehlen Grenzwerte für alle analysierten Parameter. In der Tochtrichtlinie zur WRRL sind für Sedimente keine Grenzwerte genannt, in der OGWV werden lediglich Vorgaben für zwölf der analysierten Substanzen in Sedimenten gemacht. Allgemeine Qualitätsziele für eine Schadstoffreduzierung sind den Vorschriften aus WRRL, der Tochtrichtlinie „Prioritäre Stoffe“, sowie den Vorgaben der IKSE- und des OSPAR-Abkommens zu entnehmen. Der Vergleich von 15 Richtlinien zur Sedimentqualität von Hübner et al. (2009) verdeutlicht, dass noch keine einheitlichen europäischen Vorgaben vorhanden sind. Dennoch wird ein hoher Anspruch an die Elbe gestellt. Sie soll ihre natürlichen Nutzungsansprüche ermöglichen, aquatischen Lebensgemeinschaften Schutz gewährleisten und die Umlagerung von Sedimenten soll umweltverträglich sein (Schwartz, 2011).

Im Rahmen dieser Arbeit konnten die Ursachen für die vorgefundene Toxizität nicht ermittelt werden. Dies unterstützt somit die Wichtigkeit eines Toxizitätstest, denn nur so kann die Kombinationswirkung der Vielzahl an Substanzen in Sedimenten erfasst und bewertet werden. Wenn die Überschreitung der gegebenen Grenzwerte nicht im Labor erkannt wird, da möglicherweise die toxische Substanz nicht bestimmt wurde, bleibt die vorhandene Toxizität unbemerkt. Zusätzlich kann es zu einer Kombinationswirkung von mehreren Parametern kommen, die ebenfalls nicht im Labor gemessen werden kann.

Ein erfolgreich durchzuführender Fischei-Sedimentkontakttest bedarf einer Kontrolle der Sauerstoffversorgung. Speziell wegen der möglichen Sauerstoffzehrung sollte daher vor jedem Test ein neues Sediment bzw. ein neuer Schwebstoff auf seine sauerstoffzehrende Wirkung überprüft werden. Sedimente bzw. Schwebstoffe können sich sehr stark voneinander unterscheiden und es kann außerdem zu starken saisonalen Schwankungen kommen (Abrantes et al., 2008, Strecker et al., 2011, Zielke et al., 2011). Ferner ist es unerlässlich, dass nicht nur die letalen Endpunkte notiert werden, sondern auch subletale mit einbezogen werden, die einen Hinweis auf möglichen Sauerstoffmangel während des Tests geben. Die Erhöhung der Schüttelfrequenz auf 80 rpm hatte keine negativen Einflüsse auf die Embryonalentwicklung und die Fischeier sind durch das Schütteln nicht in das feine Sediment gesunken, sodass sich die

Sauerstoffzehrung nicht verstärkt hat. Die Sauerstoffzehrung der Schwebstoffe ließ sich durch eine 24 Stunden Vorinkubation nur bedingt verbessern. Die Modifikationen der Erhöhung der Schüttelfrequenz und der Vorinkubation führten zu einer Verbesserung der Sauerstoffversorgung und werden in die SOP mit aufgenommen. Als weitere Möglichkeit für zukünftige Kontakttests kann die Vergrößerung des Durchmessers der Testgefäße gesehen werden, um so den Sauerstoffeintrag durch die größere Oberfläche zu verbessern (Kensy et al., 2005). Dies ist in weiteren Versuchen zu testen. Ebenso kann durch ein Belüftungssystem, wie es Grote et al. (2004) verwendeten, Sauerstoff eingetragen werden. Außerdem sollte ein Grenzwert für die Anzahl der nicht wiedergefundenen Eier definiert werden, ab dem ein Test nicht mehr valide ist. Somit wird eine potentielle Fehleinschätzung der Toxizität minimiert (Strecker, 2008). Ebenso muss geklärt werden, ob die nicht wiedergefundenen Eier als letal mit in die Toxizität mit eingerechnet werden. Dies entspricht dem Vorsorgegedanken und verhindert eine Manipulationsgefahr, da gefordert wird alle Eier wiederzufinden. Im Sedimenttest mit Amphipoden werden fehlende Tiere als „tot“ bewertet, die Testdauer erstreckt sich allerdings über 10 Tage (Floeter, 2009). Bei der Betrachtung der Verdünnungsreihen von Hollert et al. (2003) und Keiter (2007) kristallisiert sich noch ein grundsätzliches Problem heraus. Während die Sauerstoffzehrung durch die Vermischung mit Quarzsand, von dem keine Zehrung ausgeht, verringert wird, reduziert sich jedoch auch die Toxizität und kann so abgeschwächt werden, dass keine Auswirkungen mehr an den Fischeiern festzustellen sind. Raasch (2011) merkte in ihrer Studie bereits an, dass die Effekte von Gefrier Trocknung, Lagerung und der Einfluss von abiotischen Faktoren wie pH-Wert und elektrischer Leitfähigkeit bisher nicht berücksichtigt werden.

Der wichtigste Faktor für eine korrekte Sauerstoffmessung ist die Positionierung des Sensors. Eine optimale Positionierung gestaltete sich als schwierig, da der feine Sensor im trüben Überstandswasser schwer zu erkennen war und der Schwebstoff keine ebene Oberfläche bildete. Innerhalb der Versuche brachen zwei Mikrosonden ab, als die Sonde versehentlich in den Schwebstoff eintauchte. Deshalb sollte der Sensor am Rand der Kristallisierschalen positioniert werden, um das Leuchten der Sensorspitze beim Messvorgang besser erkennen zu können. Außerdem sollte die Stabilität des Stativs, an dem die Sonde befestigt ist, mechanisch verbessert werden, um die Justierung des Sensors exakter vornehmen zu können.

Der Fischei-Sedimentkontakttest ist ein vielversprechender Test, der zukünftig sehr wichtig für die Beurteilung von Sedimenten und ihrer Toxizität sein wird. Eine Einschränkung besteht darin, dass nur die Wirkung auf die embryonale Entwicklung beurteilt wird (Hallare et al., 2011). Für eine umfassende Beurteilung reicht eine einzige Testmethode mit einem Testorganismus nicht aus. Empfohlen wird daher eine Kombination aus verschiedenen

biologischen Verfahren, damit unterschiedliche Expositionswege abgedeckt werden können. Neben dem nativen Sediment sollten außerdem Porenwasser, Eluate und organische Extrakte untersucht werden (Ahlf 1995). Ulrich et al. (2002) wiesen mit verschiedenen Expositionspfaden im Bakterienkontakttest und Fischeitest nach, dass die Unterschiede zwischen nativen Proben und acetonischen Extrakten signifikant, aber nicht vorhersehbar sein können.

Eine Testbatterie mit unterschiedlichen Testorganismen zur Sedimentbewertung entwickelte das Verbundprojekt SeKT. Referenzbedingungen, Kontrollsedimente und Toxizitätsschwellenwerte für eine limnische Testbatterie wurden festgelegt (Feiler et al., 2005). Neben unterschiedlichen Expositionswegen und variablen Testorganismen spielt auch die Wirkung in verschiedenen trophischen Ebene eine wichtige Rolle, wie sie Tuikka et al. (2011) und Wolfram et al. (2012) entwickelten und testeten.

Zukünftige Ziele beinhalten, dass nicht nur die Toxizität an sich erfasst wird, sondern auch beurteilt werden kann, wo und wie toxische Substanzen wirken. Strmac et al. (2002) konnten deutliche Dosis-Wirkungs-Beziehungen zwischen organischen Sedimentextrakten und der Embryonalentwicklung erkennen, ohne jedoch die verantwortlichen Substanzen zu identifizieren. Aus diesem Anlass wurde das durch BMBF-geförderte Projekt zur „Identifizierung sedimentgebundener Schadstoffe: Toxizitätstest-geleitete Analytik“ gegründet (ISIS, 2003). Ähnlich testeten Brack et al. (2009) die wirkungsorientierte Analytik und Bioverfügbarkeit von partikelgebundenen Schadstoffen in Sedimenten. Diese Methodik heißt *Toxicity Identification and Evaluation* (TIE).

Um Sedimente vollständig bewerten zu können, sollte also eine Kombination aus chemischer Analyse, in situ Untersuchungen des Benthos und Biotestverfahren erfolgen. Diese umfassende Sedimentbewertung sollte zukünftig in Richtlinien wie der WRRL integriert werden.

Die vorliegende Arbeit leistet für eine solche Bewertung einen wichtigen Beitrag. Sie hat gezeigt, dass auch stark zehrende Sedimente im Fischei-Sedimentkontakttest untersucht werden können. Es wird aber auch immer Sedimente geben, deren Sauerstoffzehrung während der Testphase nicht ausreichend ausgeglichen werden kann. Eine Bewertung dieser Sedimente erfolgt in anderen Tests. Die toxikologische Untersuchung der Hamburger Schwebstoffe aus Seemannshöft und Bunthaus hat gezeigt, dass die Schwebstoffe aus Seemannshöft eindeutig toxisch gegenüber Fischeier sind. Die Toxizität der Schwebstoffe aus Bunthaus und auch der Hochwasserproben ließen sich dagegen nicht von den Effekten durch Sauerstoffmangel auf die Embryonen abgrenzen.

---

## Literaturverzeichnis

Abrantes N, Pereira R, de Figueriredo DR, Marques CR, Pereira MJ, Goncalves F (2008): A whole sample toxicity assessment to evaluate the sub-lethal toxicity of water and sediment elutriates from a lake exposed to diffuse pollution. *Environmental Toxicity DIO* 10, 259-270.

Ahlf W (1995): Ökotoxikologische Sedimentbewertung - Sedimenttoxizität, Biotest, Testkombination. *UWSF- Z. Umweltchem. Ökotox.* 7 (2), 84-91.

Bang A, Gronjaer P, Malte H (2004): Individual variation in the rate of oxygen consumption by zebrafish embryos. *Journal of Fish Biology* (64), 1285-1296.

Barrionuevo WR, Fernandes MN, Rocha O (2010): Aerobic and anaerobic metabolism for the zebrafish, *Danio rerio*, reared under normoxic and hypoxic conditions and exposed to acute hypoxia during development. *Braz. J. Biol.* (70), 425-434.

Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) (2004): Statusseminar Sedimentkontakttests 05/2004. 28, 50 – 61.

Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) (2008): Sediment Contact Tests Reference conditions, control sediments, toxicity thresholds.

[http://www.bafg.de/DE/05\\_Wissen/04\\_Pub/03\\_Veranst/BfG-Veranstaltungen200902.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.bafg.de/DE/05_Wissen/04_Pub/03_Veranst/BfG-Veranstaltungen200902.pdf?__blob=publicationFile) (Zugriff am 10. Oktober 2013).

BMU (2013): Flüsse und Seen.

<http://www.bmu.de/themen/wasser-abfall-boden/binnengewasser/fluesse-und-seen/> (Zugriff am 10. Oktober 2013).

Brack W, Bandow N, Schwab K, Schulze T, Streck G (2009): Identifizierung toxischer Verbindung in Sedimenten: Ansätze zur Integration von Wirkung und Bioverfügbarkeit. *Umweltwiss Schadst Forsch* (21), 240-244.

Braunbeck T, Böttcher M, Hollert H, Kosmehl T, Lammer E, Leist E, Rudolf M, Seitz N (2005): Towards an Alternative for the Acute Fish LC50 Test in Chemical Assessment: The Fish Embryo Toxicity Test Goes Multi-species – an Update. *ALTEX* 22, 2/05, 87-102.

Braunbeck T, Lammer E (2006): Background paper on fish embryo toxicity assays. UBA Contract Number 203 85 422, 1-40.

CEN (2012): Schlamm, behandelter Bioabfall, Boden und Abfall - Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) mittels trockener Verbrennung; Deutsche Fassung EN 15936:2012.

Chen JN, Fishman MC (1997): Genetic dissection of heart development. *TIG* September 2000, volume 16, No. 9, 383-388.

Claus E (2010): Empfehlung für Schwebstoffuntersuchungen an Überblicksmessstellen im Elbeinzugsgebiet. Elbe Ad-hoc AG Schadstoffe der AG OW der FGG.

[http://www.lugv.brandenburg.de/cms/media.php/lbm1.a.3310.de/wrrl\\_schweb.pdf](http://www.lugv.brandenburg.de/cms/media.php/lbm1.a.3310.de/wrrl_schweb.pdf) (Zugriff am 04. September 2013).

- DanTox-Symposium (2013): Methoden zur Bewertung von Sedimenttoxizität mit dem Zebrafisch *Danio rerio*. Aachen.
- DIN (2001): DIN 38415-6: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung Suborganismische Testverfahren (Gruppe T) Teil 6: Giftigkeit gegenüber Fischen Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser auf die Entwicklung von Fischeiern über Verdünnungsstufen (T 6). Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN (2009): DIN 15088: Deutsches Institut für Normung DIN EN ISO. Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (*Danio rerio*). 11. Deutsche Fassung, Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- Ducharme NA, Peterson LE, Benfenati E, Reif D, McCollum CW, Gustafsson JA, Bondesson M (2013): Meta-analysis of toxicity and teratogenicity of 133 chemicals from zebrafish developmental toxicity studies. *Reproductive Toxicology* 41, 98-108.
- Duetz WA, Witholt B (2001): Effectiveness of orbital shaking for the aeration of suspended bacterial cultures in square-deepwell microtiter plates. *Biochemical Engineering Journal* 7, 113-115.
- Duetz WA, Witholt B (2004): Oxygen transfer by orbital shaking of square vessels and deepwell microtiter plates of various dimensions. *Biochemical Engineering Journal* 17, 181-185.
- European Commission (2001): White Paper — Strategy for a future Chemicals Policy.
- Eldridge PM, Morse JW (2008): Origins and temporal scales of hypoxia on the Louisiana shelf: Importance of benthic and sub-pycnocline water metabolism. *Marine Chemistry* 108, 159-171.
- Europäisches Parlament und Rat (2000): Wasserrahmenrichtlinie, WRRL, Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates. Artikel 4, S.13.
- Europäische Union (2008): Richtlinie 2008/105/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Umweltqualitätsnormen im Bereich der Wasserpolitik und zur Änderung und anschließenden Aufhebung der Richtlinien des Rates 82/176/EWG, 83/513/EWG, 84/156/EWG, 84/491/EWG und 86/280/EWG sowie zur Änderung der Richtlinie 2000/60/EG. Amtsblatt der Europäischen Union, L 348/84.
- Europäische Union (2010): Richtlinie 2010/63/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. Amtsblatt der Europäischen Union, L 276/33,41,71.
- Feiler U, Höss S, Ahlf W, Seiler T, Hollert H, Melbye K, Neumann-Hense H, Melter M, Weber J, Heininger P (2005): Das SeKT Verbundprojekt: Definition von Referenzbedingungen, Kontrollsedimenten und Toxizitätsschwellenwerten für limnische Sedimentkontakttests. *UWSF - Z Umweltchem Ökotox* 17, 250-251.
- Feiler U, Höss S, Ahlf W, Daniel G, Hammers-Wirtz M, Hollert H, Meller M, Neumann-Hensel H, Ottermanns R, Seiler T, Spira D, Heininger P (2012): Sediment contact tests as a tool for the assessment of sediment quality in German waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 32 SETAC, 144-155.

Floeter, C (2009): Basisdokument zum marinen Amphipodentest basierend auf DIN EN ISO 16712 (2007) für die Bewertung von Sedimenten/ Baggergut im Auftrag der Hamburg Port Authority. S.22.

Flussgebietsgemeinschaft-Elbe (2009): Hintergrundpapier zur Ableitung der überregionalen Bewirtschaftungsziele für die Oberflächengewässer im deutschen Teil der Flussgebietseinheit Elbe für den Belastungsschwerpunkt.

<http://www.elsa-elbe.de/assets/download/FGG-Elbe-Hintergrundpapier-Schadstoffe-2009.pdf> (Zugriff am 27. Juni 2013).

Garcia-Kaeufer M, Hafner C, Gartiser S, Keiter SH, Hollert H (2012): Hydrotox. Evaluation of genotoxicity of sediment samples using zebrafish embryo and comet assay.

<http://www.hydrotox.de/pdf/SETAC%20DanTox%20Comet%2012-05-2012.pdf> (Zugriff am 22. Oktober 2013).

Grillitsch S, Medgyesy N, Schwerte T, Pelster B (2005): The influence of environmental PO<sub>2</sub> on hemoglobin oxygen saturation in developing zebrafish *Danio rerio*. The Journal of Experimental Biology 208, 309-317.

Grote M, Walter H, Altenburger R (2004): Toxizitätsuntersuchungen von Elbsedimenten in Kontakttest mit *Lemna minor* und *Danio rerio*. BfG Veranstaltungen: Statusseminar-Sedimentkontakttest. S. 25-35.

Hafenbautechnische Gesellschaft (2004): Sedimentmanagement im Rahmen der EU-Wasserrahmenrichtlinie. Hafenbautechnische Gesellschaft Fachausschuss Baggergut. 15.02.2004.

<http://www.htg-baggergut.de/Downloads/Sediment%20Management%20WRRL%20HTGFA%20BG.pdf> (Zugriff am 09. Oktober 2013).

Hallare A, Seiler T, Hollert H (2011): The versatile, changing, and advancing roles of fish in sediment toxicity assessment—a review. J Soils Sediments 11, 141–173.

Hamburger Institut für Hygiene und Umwelt (2013)

<http://www.hamburg.de/hu/>. 2013. (Zugriff am 13. März 2013).

Hamilton F (1822): An account of the fishes found in the river Ganges and its branches.

<https://archive.org/details/accountoffishesf00hami> (Zugriff am 04. Oktober 2013).

Hollert, H (2001): Entwicklung eines kombinierten Untersuchungssystems für die Bewertung der ökotoxikologischen Belastung von Fließgewässersedimenten und -schwebstoffen. Dissertation Universität Heidelberg.

<http://archiv.ub.uni-heidelberg.de/volltextserver/1602/1/Bildschirm.pdf> (Zugriff am 01. Oktober 2013).

Hollert H, Keiter S, König N, Rudolf M, Ulrich M, Braunbeck T (2003): A new Sediment Contact Assay to Assess particle-bound Pollutants Using Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos. JSS- J Soils & Sediment 3, 197-207.

- Hollert H, Heise S, Keiter S, Heininger P, Förstner U (2007): Wasserrahmenrichtlinie - Fortschritte und Defizite. UWSF – Z Umweltchem Ökotox 19 (Sonderausgabe 1), 1-13.
- Hollert H, Zielke H (2010): SOP Sedimentkontakttest *Danio rerio*. Sedimentkontakttest mit dem Zebrafisch (*Danio rerio*). RWTH Aachen.
- Hsu P, Matthäi A, Heise S, Ahlf W (2007): Seasonal variation of sediment toxicity in the Rivers Dommel and Elbe. Environmental Pollution 148, 817-823.
- Huber, Krause (2006): Instruction Manual Microx TX. Regensburg: PreSens GmbH.
- Hübner R, Brain Astin K, Herbert RJH (2009): Comparison of sediment quality guidelines (SQGs) for the assessment of metal contamination in marine and estuarine environments. Journal of Environmental Monitoring 11, 713-722.
- Hydrotox (2013): Fischeitest (subchronische Toxizität).  
<http://www.hydrotox.de/fischeitest.html> (Zugriff am 22. September 2013).
- ISIS (2003): Identifizierung sedimentgebundener Schadstoffe: Toxizitätstest-geleitete Analytik. Abschlussbericht BMBF-Projekt, Hamburg: Universität Hamburg.
- Jacob E, Drexel M, Schwerte T, Pelster B (2002): Influence of hypoxia and hypoxemia on the development of cardiac activity in zebrafish larvae. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol (283), 911-917.
- Keiter S (2007): Dissertation - Der Fischrückgang in der Donau – Ein Modell zur Bewertung der Belastung von Sedimenten. Universität Heidelberg.
- Keiter S, Peddinghaus S, Feiler U, von der Goltz B, Hafner C, Ho NY, Rastegar S, Otte JC, Ottermanns R, Reifferscheid G, Strähle U, Braunbeck T, Hammers-Wirtz M, Hollert H (2010): DanTox - A novel joint research project using zebrafish (*Danio rerio*) to identify specific toxicity and molecular modes of action of sediment-bound pollutants., 714-717. J Soils Sed (4), 714-717.
- Kensy F, Zimmermann HF, Knabben I, Anderlei T, Trauthwein H, Dingerdissen U, Büchs J (2005): Oxygen transfer phenomena in 48-well microtiter plates: Determination by optical monitoring of sulfite oxidation and verification by real-time measurement during microbial growth. Biotechnol. Bioeng., 89, 698-708.
- Kimmel C, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF (1995): Stages of Embryonic Development of the Zebrafish. Developmental dynamics 203, 253-310.
- Kölle-Zoo GmbH.  
<http://www.koelle-zoo.de/aquaristik/tiere-pflanzen/suesswasser/fsw-30-02b.jpg>. (Zugriff am 18. Juli 2013).
- Kosmehl T, Krebs F, Manz W, Erdinger L, Braunbeck T, Hollert H (2004): Comparative genotoxicity testing of Rhine river sediment extracts using the permanent cell lines RTG-2 and RTL-W1 in the comet assay and ames assay. Soils Sed 4, 84-94.

Kosmehl T, Otte J, Lixin Y, Legradi J, Bluhm K, Zinsmeister C, Keiter S, Reifferscheid G, Manz W, Braunbeck T, Strähle U, Hollert H (2012): A combined DNA-microarray and mechanism-specific toxicity approach with zebrafish embryos to investigate the pollution of river sediments. *Reproductive Toxicology* 33, 245-253.

Küster E, Altenburger R (2008): Oxygen Decline in Biotesting of Environmental Samples - Is There a Need for Consideration in the Acute Zebrafish Embryo Assay? *Wiley Periodicals*, 745-750.

Lawrence C (2007): The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture* 269, 1-20.

MacPherson TA, Lawrence B, Cahoon, Mallin MA (2007): Water column oxygen demand and sediment oxygen flux: patterns of oxygen depletion in tidal creeks. *Hydrobiologia*, 235-248.

Michelsen H (2008): Jahresbericht des Landesamtes für Natur und Umwelt des Landes Schleswig-Holstein 2007/08. Sediment- und Schwebstoffuntersuchungen. <http://www.umweltdaten.landsh.de/nuis/upool/gesamt/jahrbe07/Schwebstoffuntersuchungen.pdf> (Zugriff am 19. Oktober 2013).

Mleinek A (2012): Leistungen des LHW-Labors in der Gewässerüberwachung – eine Spurensuche. 06. Juni 2012. [http://www.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Elementbibliothek/Master-Bibliothek/Landesbetriebe/LHW/neu\\_PDF/1.0/Vortrag\\_Frau\\_Dr.\\_Mleinek.pdf](http://www.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Elementbibliothek/Master-Bibliothek/Landesbetriebe/LHW/neu_PDF/1.0/Vortrag_Frau_Dr._Mleinek.pdf) (Zugriff am 19. Oktober 2013).

Nagel R, Bresch H, Caspers N, Hansen P, Markert M, Munk R, Scholz N, Höfter B (1991): Effect of 3,4-Dichloraniline on the Early Life Stages of the Zebrafish (*Brachydanio rerio*): Results of a Comparative Laboratory Study. *Ecotoxicology and environmental safety* 2, 157-164.

Oberflächengewässerverordnung (2011): Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer. Oberflächengewässerverordnung vom 20. Juli 2011 (BGBl. I S. 1429). <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/ogewv/gesamt.pdf> (Zugriff am 20. Oktober 2013).

Otubu JE, Hunter JV, Francisco KL, Uchirin CG (2006): Temperature effects on tubificid worms and their relation to sediment oxygen demand. *Journal of Environmental Science and Health Part A, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 41(8), 1607-1613.

Padilla PA, Roth MB (2001): Oxygen deprivation causes suspended animation in the zebrafish embryo. *PNAS* vol. 98 (13), 7331–7335.

Padilla S, Corum D, Padnos B, Hunter DL, Beam A, Houck KA, Sipes N, Kleinstreuer N, Knudsen T, Dix DJ, Reif DM (2012): Zebrafish developmental screening of the ToxCast™ Phase I chemical library. *Reprod Toxicol.* 33(2), 174-87.

Raasch C (2011): Fischeis sedimentkontakttest mit Embryonen des Zebraäbblings. Masterthese, FH Merseburg.

REACH-Verordnung (2012): Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Chemikalienagentur.

Konsolidierte Fassung.

[http://eur-](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1907:20121009:DE:PDF)

[lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1907:20121009:DE:PDF](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1907:20121009:DE:PDF) (Zugriff am 04. Oktober 2013)

Rocha PS, Bernecker C, Strecker R, Fiorillo-Mariani C, Martins-Pomp LM, Storch V, Hollert H, Braunbeck T (2011): Sediment-contact fish embryo toxicity assay with *Danio rerio* to assess particle-bound pollutants in the Tiete River Basin (Sao Paulo, Brazil). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74, 1951-1959.

Schleswig-Holstein, Landesamt für Natur und Umwelt des Landes (2001):

[http://www.umweltdaten.landsh.de/nuis/wafis/seen/chemie\\_sedimente.pdf](http://www.umweltdaten.landsh.de/nuis/wafis/seen/chemie_sedimente.pdf) (Zugriff am 04. Oktober 2013).

Schwartz R, Keller I (2011): Ursachen und Folgen der Schadstoffbelastung der Elbe sowie mögliche Maßnahmen zu deren Reduzierung. Erfurter Gespräche zur Wasserrahmenrichtlinie. <http://www.elsa-elbe.de/assets/download/ELSA-DWA-Textbeitrag-Schadstoffe-Elbe-2011.pdf> (Zugriff am 27. Juni 2013).

Schwartz R (2011): Informationen zum Hamburger Projekt "Schadstoffsanierung Elbsedimente" Flyer. HPA Hamburg.

Schwartz R (2013): Messprogramm beim Elbehochwasser, Behörde für Stadtentwicklung und Umwelt.

<http://www.hamburg.de/hochwasser/4011598/elbhochwasser-wasserqualitaet.html> (Zugriff am 06. September 2013).

SedNet (2013): Strategy Paper.

<http://www.sednet.org/download/SedNet-StrategyPaper.pdf> (Zugriff am 10. Oktober 2013).

SOP (2009): Qualitätsmanagementhandbuch Fischei – Test, SOP HU411.105, Version 03, 07.12.2009. Hamburg: Institut für Hygiene und Umwelt.

SOP (2011): Qualitätshandbuch HU4 - Fischei-Sedimentkontakttest. Bestimmung der Wirkung von Sedimentproben auf die Entwicklung von Fischeiern. Hamburg: Institut für Hygiene und Umwelt.

Strähle U, Scholz S, Geisler R, Greiner P, Hollert H, Rastegar H (2010): Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments - A commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations. *Reproductive Toxicology*.

Strecker R (2008): Untersuchungen zum Sauerstoffbedarf des Zebrabärblings (*Danio rerio*) im Sedimentkontakttest. Diplomarbeit, Universität Heidelberg.

Strecker R, Seiler TB, Hollert H, Braunbeck T (2011): Oxygen requirements of zebrafish (*Danio rerio*) embryos in embryo toxicity tests with environmental samples. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 153, 318–327.

- Strmac M, Oberemm A, Braunbeck T (2002): Effects of Sediment eluates and extracts from different polluted small rivers on zebrafish embryos and larvae. *Journal of Fish Biology* 61,24-38.
- Theel D (2013): Erfassung und Sicherstellung des Sauerstoffgehalts im Fischei-Sedimentkontakttest. Bachelorarbeit, HAW Hamburg.
- Tuikka AI, Schmitt C, Höss S, Bandow N, von der Ohe PC, de Zwart D, de Deckere E, Streck G, Mothes S, van Hattum B, Kocan A, Brix R, Brack W, Barceló D, Sormunen AJ, Kukkonen JV (2011): Toxicity assessment of sediments from three European river basins using a sediment contact test battery. *Ecotoxicol Environ Safety* 75, 123-131.
- Ulrich M, Schulze T, Leist E, Glalg B, Maier M, Maier D, Braunbeck T, Hollert H (2002): Abschätzung des Gefährdungspotenzials für Trinkwasser und Korrelation verschiedener Expositionspfade (Acetonischer Extrakt, Natives Sediment) im Bakterienkontakttest und Fischeitest. *UWSF-Z Umweltchem Ökotox* 14(3), 132-137.
- Undine (2013): Ergebnisse Messprogramm Extremereignisse. Datengrundlagen zur Einordnung und Bewertung hydrologischer Extreme . Stand: 03.09.013. [http://undine.bafg.de/servlet/is/21318/Oberflaechenwasser\\_Ergebnisse\\_Messprogramm\\_Extremereignisse\\_03Sep2013.pdf](http://undine.bafg.de/servlet/is/21318/Oberflaechenwasser_Ergebnisse_Messprogramm_Extremereignisse_03Sep2013.pdf) (Zugriff am 06. September 2013).
- Undine (2013): <http://undine.bafg.de/servlet/is/12449/>. 2013. <http://undine.bafg.de/servlet/is/12449/> (Zugriff am 14. August 2013).
- Vobach M, Kammann U (2003): Der Fischei-Test - Ein Toxizitätstest für ökotoxikologische Untersuchungen. *Information Fischwirtschaft Fischereiforschung* 50(3), 126-130.
- Weinstein B, Schier A, Abdelilah S, Malicki J, Solnica-Krezel L, Stainier D, Stemple R, Didier Y, Zwartkruis F, Driever W, Fishman M (1996): Hematopoietic mutations in the zebrafish. *The Company of Biologists Limited Development* 123, 303-309.
- Westerfield M (2000): *The Zebrafish Book*. Eugene, OR, USA: University of Oregon Press, 2000.
- Wetzel MA, Wahrendorf DS, von der Ohe PC (2013): Sediment pollution in the Elbe estuary and its potential toxicity at different trophic levels. *Science of the Total Environment* 449, 199-207.
- Wixon J (2000): *Danio rerio*, the zebrafish. *Yeast* 17, 225-231.
- Wolfram G, Höss S, Orendt C, Schmitt C, Adamek Z, Bandow N, Großschartner M, Kukkonen JVK, Leloup V, Lopez Doval JC, Munoz I, Traunspurger W, Tuikka A, van Liefferinge C, von der Ohe PC, Deckere D (2012): Assessing the impact of chemical pollution on benthic invertebrates from three different European rivers using a weight-of-evidence approach. *The Science of the Total Environment* 438, 498-509.
- Yaqoob, Nadeem, Schwerte (2010): Cardiovascular and respiratory development plasticity under oxygen depleted environment and in genetically hypoxic zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* (156), 475-484.

Zielke H (2011):Dissertation - Time-related alterations and other confounding factors in direct sediment contact tests. RWTH Aachen.

Zielke H, Seiler TB, Niebergall S; Leist E, Brinkmann M, Spira D, Streck G, Brack W, Feiler U, Braunbeck T, Hollert H (2011): The impact of extraction methodologies on the toxicity of sediments in the zebrafish (*Danio rerio*) embryo test. J Soils Sediments 11, 352–363.

## Anhang

### Übersicht

Anhang I	Analytikdaten Schwebstoffe
Anhang II	Stoffdaten Quarzsand
Anhang III	Messergebnisse Einfluss der Schüttelfrequenz auf die Fischembryonen
Anhang IV	Messergebnisse Sauerstoffmessung bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm
Anhang V	Messergebnisse Toxizität der Schwebstoffe und Vorinkubation
Anhang VI	überarbeiteter Entwurf SOP

## Anhang I Analytikdaten Schwebstoffe

Tabelle I.1 Methoden und Normen der analysierten Parameter

Parameterbestimmung	Einheit	Norm/Methode	Gerät	Zusatz
Arsen	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	Bestimmung der Elemente As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, V, Zn in Sedimenten und Schwebstoffen mit der ICP-OES (Optima 5300 DV)
Blei	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Cadmium	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Chrom	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Eisen	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Kupfer	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Mangan	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Nickel	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Vanadium	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Zink	mg/kg TM	DIN EN ISO 11885 (E22) (2009)	ICP-OES	
Selen	mg/kg TM	DIN EN ISO 17294-2 (E29) (2005)	HR-ICP-MS	Bestimmung von As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, V, Zn und weiterer Elemente in Oberflächenwasserproben, anderen Wasserproben und Schwebstoff/Sedimentaufschlüssen mittels hochauflösender ICP-MS
Silber	mg/kg TM	DIN EN ISO 17294-2 (E29) (2005)	HR-ICP-MS	
Thallium	mg/kg TM	DIN EN ISO 17294-2 (E29) (2005)	HR-ICP-MS	
Uran	mg/kg TM	DIN EN ISO 17294-2 (E29) (2005)	HR-ICP-MS	
Kobalt	mg/kg TM	DIN EN ISO 17294-2 (E29) (2005)	HR-ICP-MS	
Quecksilber	mg/kg TM	DIN EN ISO 17294-2 E29 (2005)	ICP-MS	Bestimmung von Quecksilber in Schwebstoff/Sedimentaufschlüssen mittels Quadrupol
Pentachlorbenzol	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Hexachlorbenzol	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	Bestimmung von schwerflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen mittels GC-MS/MS nach FL-FL-Extraktion mit Hexan
PCB 28	µg/kg TM	DIN 38407 Teil 2 (F2, Februar 1993)	GC/MS-EL	
2.2'.5.5'-Tetrachlorbiphenyl (52)	µg/kg TM	DIN 38407 Teil 2 (F2, Februar 1993)	GC/MS -EL	Bestimmung von schwerflüchtigen chlorierten Kohlenwasserstoffen und PAK in Extrakten mittels GC-MS (Elektronenstoßionisation)
2.2'.4.5.5'-Pentachlorbiphenyl (101)	µg/kg TM	DIN 38407 Teil 2 (F2, Februar 1993)	GC/MS -EL	
2.3'.4.4'.5'-Pentachlorbiphenyl (PCB 118)	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
2.2'.3.4.4'.5'-Hexachlorbiphenyl (138)	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
2.2'.4.4'.5.5'-Hexachlorbiphenyl (153)	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
2.2'.3.4.4'.5.5'-Heptachlorbiphenyl(180)	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	

Parameterbestimmung	Einheit	Norm/Methode	Gerät	Zusatz
Summe Polybromdiphenylether laut WRRL	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
2,4,4'-Tribromdiphenylether(28)	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
2,2',4,4'-Tetrabromdiphenylether(47)	µg/kg TM	Hausmethode	GC MS/MS	
BDE-209	µg/kg TM	DIN EN ISO 22032:2009 (F28)	GC-MS-NCI-2	Bestimmung von ausgewählten schwerflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen mittels GC-MS/MS nach FL-FL-Extraktion mit Hexan
2,2',4,4',6-Pentabromdiphenylether(100)	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
2,2',4,4',5,5'-Hexabromdiphenylether(153)	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
DEHP	µg/kg TM	DIN EN ISO 18856:2004 F26		
Pentachlorphenol	µg/kg TM	Hausmethode	PCP HPLC-MSMS	
DDD, o,p'-	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	Bestimmung von ausgewählten schwerflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen mittels GC-MS/MS nach FL-FL-Extraktion mit Hexan
DDD, p,p'-	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
DDE, o,p'-	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
DDE, p,p'-	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
DDT Summe	µg/kg TM			
DDT, o,p'-	µg/kg TM	DIN 38407 Teil 2 (F2, Februar 1993)	GC-MS/MS	Bestimmung von ausgewählten schwerflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen mittels GC-MS/MS nach FL-FL-Extraktion mit Hexan
DDT, p,p'-	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
DDX Summe	µg/kg TM		GC-MS-EI	
HCH, alpha	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	Bestimmung von ausgewählten schwerflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen mittels GC-MS/MS nach FL-FL-Extraktion mit Hexan
HCH, beta	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Lindan	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
HCH, delta	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
HCH, epsilon	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
HCH Summe berechnet	µg/kg TM			
Tricyclohexylzinn-Kation	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Triphenylzinn-Kation	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Monobutylzinn-Kation	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Dibutylzinn-Kation	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Tributylzinn-Kation	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Tetrabutylzinn	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Monooctylzinn-Kation	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	
Diocetylzinn-Kation	µg/kg TM	Hausmethode	GC-MS/MS	

Tabelle I.2 Analytikdaten Schwebstoffe 2013 SH: Seemannshöft, BU: Bunthaus

Parameterbestimmung	Einheit	Bestimmungsgrenze	SH März	SH April	SH Mai	BU März	BU April	BU Mai
Arsen	mg/kg TM	10	10	11		20	21	
Blei	mg/kg TM	4	22	28		59	62	
Cadmium	mg/kg TM	0,1	1,1	1,5		3,4	3,5	
Chrom	mg/kg TM	2	23	26		47	42	
Eisen	mg/kg TM	5	14000	16000		24000	23000	
Kupfer	mg/kg TM	2	30	35		65	65	
Mangan	mg/kg TM	10	1400	1500		2200	2300	
Nickel	mg/kg TM	2	13	16		30	28	
Vanadium	mg/kg TM	2	16	18		30	30	
Zink	mg/kg TM	2	230	280		580	630	
Selen	mg/kg TM	0,4	<0,40	0,52		1,2	1,3	
Silber	mg/kg TM	0,1	0,32	0,42		0,98	0,88	
Thallium	mg/kg TM	0,1	0,28	0,28		0,44	0,38	
Uran	mg/kg TM	0,02	0,7	0,66		1,6	1,4	
Kobalt	mg/kg TM	0,2	6,6	7		15	13	
Quecksilber	mg/kg TM	0,1	0,64	0,8		1,9	1,5	
Pentachlorbenzol	µg/kg TM	1	<1,0		<1,0	2,3	1,5	2,2
Hexachlorbenzol	µg/kg TM	1			11	31	22	25
PCB 28	µg/kg TM	2			<2,0			<2,0
2.2'.5.5'-Tetrachlorbiphenyl (52)	µg/kg TM	2			<2,0			<2,0
2.2'.4.5.5'-Pentachlorbiphenyl (101)	µg/kg TM	4			<4,0			<4,0
2.3'.4.4'.5'-Pentachlorbiphenyl (PCB 118)	µg/kg TM	0,5	0,78	0,8	0,77	1,8	1,2	2,1
2.2'.3.4.4'.5'-Hexachlorbiphenyl (138)	µg/kg TM	0,5	1,3	1,6	2,5	5,9	4,1	4,5
2.2'.4.4'.5.5'-Hexachlorbiphenyl (153)	µg/kg TM	0,5	1,4	1,8	2,8	6,9	4,8	5,2
2.2'.3.4.4'.5.5'-Heptachlorbiphenyl(180)	µg/kg TM	0,5	0,82	1,3	1,7	4,4	3	2,9
Summe Polybromdiphenylether laut WRRL	µg/kg TM					3	0,86	1

Parameterbestimmung	Einheit	Bestimmungsgrenze	SH März	SH April	SH Mai	BU März	BU April	BU Mai
2,4,4'-Tribromdiphenylether(28)	µg/kg TM	0,2	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
2,2',4,4'-Tetrabromdiphenylether(47)	µg/kg TM	0,2	<0,20	<0,20	<0,20	2,2	0,25	0,33
BDE-209	µg/kg TM	0,2	<0,20	<0,20	<0,20			
2,2',4,4',6-Pentabromdiphenylether(100)	µg/kg TM	0,2	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
2,2',4,4',5,5'-Hexabromdiphenylether(153)	µg/kg TM	0,2	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
DEHP	µg/kg TM	250	<250	400	470	<250	370	
Pentachlorphenol	µg/kg TM	0,25	0,29	0,38	0,36	0,54	0,65	0,39
DDD, o.p'-	µg/kg TM	2	<2,0	2,1	3,2	12	8	11
DDD, p.p'-	µg/kg TM	2	4,8	5,8	14	30	20	27
DDE, o.p'-	µg/kg TM	2	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
DDE, p.p'-	µg/kg TM	2	<2,0	<2,0	3,3	8,1	5,5	9,6
DDT Summe	µg/kg TM		13	14	54	62	42	74
DDT, o.p'-	µg/kg TM	2	3,1	3,9	<2,0	23	15	6,4
DDT, p.p'-	µg/kg TM	2	4,2	2,8	36	<2,0	<2,0	31
DDX Summe	µg/kg TM		15	17	59	75	51	86
HCH, alpha	µg/kg TM	1	<1,0	<1,0	<1,0	5,9	3,3	2,8
HCH, beta	µg/kg TM	1	1,1	<1,0	1,4	26	8,4	6,9
Lindan	µg/kg TM	1	<1,0	<1,0	<1,0	2	<1,0	<1,0
HCH, delta	µg/kg TM	1	<1,0	<1,0	<1,0	2,5	1,4	1,6
HCH, epsilon	µg/kg TM	1	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
HCH Summe berechnet	µg/kg TM		3,1	<1,0	3,4	37	14	12
Tricyclohexylzinn-Kation	µg/kg TM	1	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Triphenylzinn-Kation	µg/kg TM	0,5	<0,50	1,3	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Monobutylzinn-Kation	µg/kg TM	0,5	12	15	11	28	17	17
Dibutylzinn-Kation	µg/kg TM	0,5	8,1	13	14	15	9,2	9,6
Tributylzinn-Kation	µg/kg TM	0,5	34	45	37	22	11	8,7
Tetrabutylzinn	µg/kg TM	0,5	2,8	6,3	4,6	7,1	13	13
Monooctylzinn-Kation	µg/kg TM	0,5	1,5	2,3	2	5,9	5,2	4,7
Diocetylzinn-Kation	µg/kg TM	0,5	0,98	1,3	1,5	5,4	3,8	3

Tabelle I.3 Zusätzliche Methoden Schwebstoffe Hochwasserproben

Parameterbestimmung	Einheit	Norm/Methode
Masse Zentrifugenschwebstoff	g	Hausmethode
Durchflussvolumen Zentrifuge	l	Hausmethode
Temperatur (Wasser)	°C	DIN 38404 C4 (Dez 1976)
Sauerstoffgehalt	mg/l	DIN EN 25814 G22 (Nov 1992)
Sauerstoffsättigungsindex	%	
pH-Wert	-	DIN 30404 C5 (Jan 1984)
Leitfähigkeit (25 °C)	µS/cm	DIN EN 27888 C8 (Nov 1993)
TOC	g/kg TM	DIN EN 1484-H3

Tabelle I.4 Analytikdaten Schwebstoffe Hochwasserproben

Entnahme		04.06.	05.06.	06.06.	08.06.	10.06.	11.06.	12.06.	13.06.	17.06.	20.06.	24.06.	01.07.
Parameterbestimmung	Einheit												
Masse Zentrifugenschwebstoff	g	210	110	120	120	190	180	160	190	93	130	69	110
Durchflussvolumen Zentrifuge	l	11,6	12,2	10,87	10,1	10,3	10,2	10,1	10,8	11	14,3	10,8	9,9
Temperatur (Wasser)	°C	15,8	16,1	16	17	17,9	17,8	17,9	18,3	19	21,2	22,4	17,7
Sauerstoffgehalt	mg/l	10,4	10,5	10,2	9,4	7,5	6,5	6,1	5,8	7	6,3	4,4	6,3
Sauerstoffsättigungsindex	%	108	110	107	100	81,5	70,5	66,3	63,5	77,7	72,8	51,9	68,2
pH-Wert	-	8,2	8,3	8,2	8	7,7	7,6	7,6	7,5	7,7	7,6	7,5	7,7
Leitfähigkeit (25 °C)	µS/cm	715	697	684	614	497	439	423	433	471	535	586	691
TOC	g/kg TM	133,4	134,1	117,7	99	74,3	49,9	38,5	40,3	114,2	189,5	58	80,6
Arsen	mg/kg TM	21	15	25	26,5	35,1	36,2	51,6	55,7	50,1	48,6	43,7	42,3
Blei	mg/kg TM	63,2	40,3	74,8	73,3	76,2	74,5	107	112	102	92,3	89,9	84
Cadmium	mg/kg TM	3,36	2,19	3,97	3,81	4,32	3,74	4,75	5,12	4,99	4,66	5,81	5,53
Chrom	mg/kg TM	40,7	31,3	46,3	47,8	45	45,2	66	77,2	68,1	61	72,5	57,7
Eisen	mg/kg TM	24395	18059	27387	27079	23889	23256	31422	34931	30732	33486	34359	34139

Entnahme		04.06.	05.06.	06.06.	08.06.	10.06.	11.06.	12.06.	13.06.	17.06.	20.06.	24.06.	01.07.
Parameterbestimmung	Einheit												
Kobalt	mg/kg TM	13	9	14	14	12	11	14	16	18	17	17	20
Kupfer	mg/kg TM	63,1	44,2	73,3	71,6	72,1	68,3	90,3	102	104	172	108	89,6
Mangan	mg/kg TM	3284	2211	3819	3037	2251	1670	1801	1917	3432	3807	3656	7447
Nickel	mg/kg TM	28,9	20,5	33	31,7	26,5	26	35,5	39,2	35,9	34,5	36,2	37,1
Quecksilber	mg/kg TM	1,3	0,88	1,7	1,5	1,7	2	2,9	4,5	3,8	2,8	3,2	2,4
Selen	mg/kg TM	1,3	0,92	1,5	1,2	1,2	1,1	1,4	1,6	1,9	2	1,7	1,7
Silber	mg/kg TM	0,73	0,51	0,91	0,83	1	0,98	1,5	1,7	1,5	1,7	1,8	1,3
Thallium	mg/kg TM	0,357	0,293	0,405	0,406	0,474	0,472	0,609	0,66	0,539	0,498	0,619	0,499
Uran	mg/kg TM	0,94	0,72	1	1,3	1,6	1,8	2,6	2,9	2,4	2,2	2	1,5
Vanadium	mg/kg TM	29,1	21,7	35,5	35,4	30,8	27,4	40,1	45,6	37,5	39,7	44,1	38,5
Zink	mg/kg TM	606	413	708	640	652	583	750	798	828	837	881	864
Hexachlorbenzol	µg/kg TM	10	13	13	13	25	19	16	30	19	19	19	12
PCB 28	µg/kg TM	<2,0	<2,0	<2,0	2,8	2,5	<2,0	2,5	2,7	<2,0	<2,0	2,7	<2,0
2.2'.5.5'-Tetrachlorbiphenyl (52)	µg/kg TM	<2,0	<2,0	<2,0	3,8	3,8	<2,0	3,2	3,1	3	<2,0	<2,0	2,5
2.2'.4.5.5'-Pentachlorbiphenyl (101)	µg/kg TM	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	6,7	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0
2.3'.4.4'.5-Pentachlorbiphenyl (PCB 118)	µg/kg TM	1,9	1,7	1,4	0,98	1,8	2,5	1,7	2,1	2,7	2,2	2,5	3,5
2.2'.3.4.4'.5'-Hexachlorbiphenyl (138)	µg/kg TM	5,1	5,2	4,1	3,8	3,8	4,7	4,4	5,3	6,3	6,3	5,5	6,5
2.2'.4.4'.5.5'-Hexachlorbiphenyl (153)	µg/kg TM	5,5	5,8	4,4	3,9	3,8	5	5	5,5	6,5	7,3	6,3	5,8
2.2'.3.4.4'.5.5'-Heptachlorbiphenyl(180)	µg/kg TM	3,2	3	2,3	2,3	2,3	2,5	2,6	3,3	3,7	3,3	3	2,8
DDD, o.p'-	µg/kg TM	7,5	7,6	6,7	6,7	9	12	11	14	16	14	11	8,9
DDD, p.p'-	µg/kg TM	18	18	14	14	20	30	40	32	34	26	25	22
DDE, o.p'-	µg/kg TM	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
DDE, p.p'-	µg/kg TM	9,8	9,6	8,5	8,7	8,7	10	9,4	12	15	14	11	9
DDT Summe	µg/kg TM	41	42	39	38	50	79	150	73	64	51	54	48
DDT, o.p'-	µg/kg TM	<2,0	<2,0	3,2	2,5	3,4	2,8	5,8	14	3,1	2,4	3,9	2,6
DDT, p.p'-	µg/kg TM	12	13	13	13	18	36	92	15	12	8,6	14	14
DDX Summe	µg/kg TM	49	50	46	46	60	92	160	88	81	66	66	58

Entnahme		04.06.	05.06.	06.06.	08.06.	10.06.	11.06.	12.06.	13.06.	17.06.	20.06.	24.06.	01.07.
Parameterbestimmung	Einheit												
HCH, alpha	µg/kg TM	1,1	1	1,1	1,5	2	2,9	2,4	3,4	2,9	2,5	2,4	2,1
HCH, beta	µg/kg TM	2,2	2,7	19	6	17	10	6,1	7,1	8,6	6,2	5,5	6,7
Lindan	µg/kg TM	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,1	<1,0	1,1	1,1	<1,0	<1,0	<1,0
HCH, delta	µg/kg TM	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,2	3,9	1,9	2,5	2,2	1,7	1,8	1,3
HCH, epsilon	µg/kg TM	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
HCH Summe berechnet	µg/kg TM	4,8	5,2	22	9	21	18	11	15	15	11	11	11
Tricyclohexylzinn-Kation	µg/kg TM	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Triphenylzinn-Kation	µg/kg TM	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Monobutylzinn-Kation	µg/kg TM	36	40	28	30	35	43	60	94	110	110	69	51
Dibutylzinn-Kation	µg/kg TM	60	77	66	75	100	120	140	130	160	340	250	140
Tributylzinn-Kation	µg/kg TM	56	61	43	51	39	58	79	72	70	100	120	89
Tetrabutylzinn	µg/kg TM	14	12	12	9,4	12	20	15	23	50	64	24	12
Monoctylzinn-Kation	µg/kg TM	34	32	24	25	25	23	23	26	41	74	71	60
Diocetylzinn-Kation	µg/kg TM	30	23	19	15	8,5	7,6	7,2	7,8	7,4	15	13	11

Tabelle I.5 Analytikdaten Schwebstoffe 2012 Seemannshöft zum Vergleich

Entnahme	Datum Start:	02.01.	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.
	Datum Ende:	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.	28.12.
Parameterbestimmung	Einheit												
TOC	mg/kg TM	18100	14800	17600	24800	32000	39700	35300	38000	40000	32500	29400	26600
AOX	mg/kg TM	47	40	41	48	59	84	65	82	75	73	66	61
Arsen	mg/kg TM	14	16	14	15	14	23	18	18	20	13	14	15
Barium	mg/kg TM	375	382	388	395	389	435	372	389	405	381	393	390
Beryllium	mg/kg TM	1,2	1,1	1,2	1,3	1,3	2,1	1,4	1,4	1,6	1,5	1,4	1,3

<b>Entnahme</b>	<b>Datum Start:</b>	<b>02.01.</b>	<b>01.02.</b>	<b>01.03.</b>	<b>02.04.</b>	<b>27.04.</b>	<b>01.06.</b>	<b>29.06.</b>	<b>31.07.</b>	<b>31.08.</b>	<b>28.09.</b>	<b>31.10.</b>	<b>29.11.</b>
	<b>Datum Ende:</b>	<b>01.02.</b>	<b>01.03.</b>	<b>02.04.</b>	<b>27.04.</b>	<b>01.06.</b>	<b>29.06.</b>	<b>31.07.</b>	<b>31.08.</b>	<b>28.09.</b>	<b>31.10.</b>	<b>29.11.</b>	<b>28.12.</b>
<b>Parameterbestimmung</b>	<b>Einheit</b>												
Blei	mg/kg TM	27	32	27	30	30	48	34	37	38	32	33	33
Bor	mg/kg TM	47	49,1	49,8	47,2	50,6	66,5	59,9	62,2	63,6	62,9	56,8	53,1
Cadmium	mg/kg TM	1,4	1,6	1,4	1,6	1,4	1,2	1,1	1,1	1	1	1,2	1,3
Chrom	mg/kg TM	27	33	33	37	38	61	47	36	38	33	33	35
Eisen	mg/kg TM	16000	19000	16000	19000	18000	29000	22000	22000	24000	21000	21000	21000
Kobalt	mg/kg TM	7,2	8,4	6,5	7,5	7,6	13	9,5	8,4	9,8	9,2	9	9,5
Kupfer	mg/kg TM	31	53	33	36	35	42	33	36	35	33	36	41
Mangan	mg/kg TM	1300	1600	1300	1600	1300	2200	1700	1600	2100	1700	2000	2000
Nickel	mg/kg TM	15	18	15	17	17	28	22	23	24	21	21	21
Quecksilber	mg/kg TM	0,56	0,66	0,67	0,77	0,68	0,93	0,75	0,78	0,86	0,78	0,8	0,93
Selen	mg/kg TM	0,48	0,62	0,51	0,67	0,7	0,95	0,67	0,66	0,8	0,72	0,6	0,75
Silber	mg/kg TM	0,48	0,48	0,39	0,45	0,44	0,72	0,49	0,38	0,52	0,56	0,56	0,61
Thallium	mg/kg TM	0,26	0,3	0,3	0,31	0,28	0,42	0,34	0,18	0,26	0,24	0,26	0,32
Uran	mg/kg TM	0,8	0,88	1	1	1,1	1,5	1,2	0,8	1	0,78	0,9	0,75
Vanadium	mg/kg TM	20	24	25	30	31	56	43	28	30	26	25	27
Zink	mg/kg TM	260	300	240	280	260	290	230	250	250	220	230	270
Pentachlorbenzol	µg/kg TM	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1	<1,0	1,1	1,1	<1,0	<1,0
Hexachlorbenzol	µg/kg TM	6,1	5,8	5,7	7,8	6,7	4,8	6,8	6	6,1	7,7	5,7	4,9
PCB 28	µg/kg TM	<4,0	<2,0	<2,0	<2,0	<4,0	<2,0	4,5	4,4	4,4	2,2	4,4	5,3
2.2'.5.5'-Tetrachlorbiphenyl (52)	µg/kg TM	<4,0	<2,0	<2,0	<2,0	<4,0	<2,0	2,1	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
2.2'.4.5.5'-Pentachlorbiphenyl (101)	µg/kg TM	<8,0	<4,0	<4,0	<4,0	<8,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0
2.3'.4.4'.5'-Pentachlorbiphenyl (PCB 118)	µg/kg TM	0,75	0,62	0,89	0,92	1,1	1,2	1,1	0,97	1,1	1	1	0,96
2.2'.3.4.4'.5'-Hexachlorbiphenyl (138)	µg/kg TM	4,1	3,2	4,9	6	5,8	6,5	5,4	5,1	5,1	5,4	4,8	4,4
2.2'.4.4'.5.5'-Hexachlorbiphenyl (153)	µg/kg TM	2,5	2	3	4	3,7	4,1	3,9	3,6	3,7	4	3,4	3,1
2.2'.3.4.4'.5.5'-Heptachlorbiphenyl(180)	µg/kg TM	1,5	1,2	1,9	2,5	1,9	2,2	2,2	1,9	1,9	2,3	1,9	1,8
Summe Polybromdiphenylether laut WRRL	µg/kg TM	0,85	0,91	1	1,3	1	1,2	1,1	1,8	0,74	0,92	0,74	0,88

Entnahme	Datum Start:	02.01.	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.
	Datum Ende:	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.	28.12.
Parameterbestimmung	Einheit												
2,4,4'-Tribromdiphenylether(28)	µg/kg TM	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
2,2',4,4'-Tetrabromdiphenylether(47)	µg/kg TM	0,25	0,28	0,29	0,62	0,38	0,59	0,61	0,85	0,24	0,42	0,24	0,26
2,2',4,4',5-Pentabromdiphenylether(99)	µg/kg TM	0,2	0,23	0,32	0,25	0,25	0,21	<0,20	0,51	<0,20	<0,20	<0,20	0,22
2,2',4,4',6-Pentabromdiphenylether(100)	µg/kg TM	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
2,2',4,4',5,5'-Hexabromdiphenylether(153)	µg/kg TM	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
2,2',4,4',5,6'-Hexabromdiphenylether(154)	µg/kg TM	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
BDE-209	µg/kg TM	22	12	23	29	33	19	13	12	8	6	13	11
DEHP	µg/kg TM	520	420	330	270	370	320	<250	<250	<250	<250	<250	280
Pentachlorphenol	µg/kg TM	<0,50	<0,50	0,54	<0,50	0,63	0,63	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	0,5
DDD, o,p'-	µg/kg TM	5,1	4,5	5,7	5,7	6,9	5,8	5,1	4,7	5,3	5,2	5,2	5
DDD, p,p'-	µg/kg TM	9,4	8,2	11	11	13	9,8	9,9	8,9	10	11	10	9,8
DDE, o,p'-	µg/kg TM	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
DDE, p,p'-	µg/kg TM	3,3	2,8	3,7	3,8	5,1	3,9	3,4	3,4	3,3	3,2	3,3	3,1
DDT Summe	µg/kg TM	22	19	24	25	34	19	17	16	15	24	19	15
DDT, o,p'-	µg/kg TM	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
DDT, p,p'-	µg/kg TM	7,9	6,5	8	8,9	15	4,2	2,2	2,3	<2,0	9,2	4,5	<2,0
DDX Summe	µg/kg TM	28	24	30	31	42	26	23	21	22	31	25	21
HCH, alpha	µg/kg TM	2,6	1,7	1,2	<1,0	4,7	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
HCH, beta	µg/kg TM	3,7	5,9	3	2,8	2,8	1,7	1,6	1,2	1,8	1,8	1,5	1,7
Lindan	µg/kg TM	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
HCH, delta	µg/kg TM	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
HCH, epsilon	µg/kg TM	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
HCH Summe berechnet	µg/kg TM	7,8	9,1	5,7	4,8	9	3,7	3,6	3,2	3,8	3,8	3,5	3,7
Tricyclohexylzinn-Kation	µg/kg TM	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	4,6	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
Triphenylzinn-Kation	µg/kg TM	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
Monobutylzinn-Kation	µg/kg TM	11	10	15	15	11	20	5,6	3,6	14	7,5	14	13

<b>Entnahme</b>	<b>Datum Start:</b>	<b>02.01.</b>	<b>01.02.</b>	<b>01.03.</b>	<b>02.04.</b>	<b>27.04.</b>	<b>01.06.</b>	<b>29.06.</b>	<b>31.07.</b>	<b>31.08.</b>	<b>28.09.</b>	<b>31.10.</b>	<b>29.11.</b>
	<b>Datum Ende:</b>	<b>01.02.</b>	<b>01.03.</b>	<b>02.04.</b>	<b>27.04.</b>	<b>01.06.</b>	<b>29.06.</b>	<b>31.07.</b>	<b>31.08.</b>	<b>28.09.</b>	<b>31.10.</b>	<b>29.11.</b>	<b>28.12.</b>
<b>Parameterbestimmung</b>	<b>Einheit</b>												
Dibutylzinn-Kation	µg/kg TM	18	10	21	29	17	27	14	<1,0	25	11	18	17
Tributylzinn-Kation	µg/kg TM	43	74	91	59	57	58	50	76	40	34	54	54
Tetrabutylzinn	µg/kg TM	4,7	2,1	3,9	3,7	6	11	6,7	2,5	3	2,4	1,8	2,1
Monooctylzinn-Kation	µg/kg TM	<1,0	<1,0	1,6	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,1	<1,0	1,5	1,3
Dioctylzinn-Kation	µg/kg TM	<2,0	<2,0	<2,0	6	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0

Tabelle I.6 Analytikdaten Schwebstoffe 2012 Bunthaus zum Vergleich

Entnahme	Datum Start:	02.01.	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.
	Datum Ende:	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.	28.12.
Parameterbestimmung	Einheit												
TOC gesamt	mg/kg TM	52000		56000	62000	62700	55000	35900	42600	50000	59000	38900	45900
AOX	mg/kg TM	92		89	101	62	59	48	54	51	52	85	91
Arsen	mg/kg TM	27		28	27	14	16	13	14	19	12	11	15
Barium	mg/kg TM	512		565	522	318	288	321	272	279	374	397	452
Beryllium	mg/kg TM	2		2,3	2,2	1,2	1	1	<1,00	<1,00	1,1	1,1	1,4
Blei	mg/kg TM	78		69	67	33	36	36	33	30	44	41	52
Bor	mg/kg TM	48,9		54,7	46,2	24,4	23,2	23	21,3	20,5	29,4	30,8	34,4
Cadmium	mg/kg TM	4,8		4,1	4,5	3,4	3,8	3,6	3	2,7	3,5	3,2	3,4
Chrom	mg/kg TM	54		57	59	27	30	28	22	20	30	28	36
Eisen	mg/kg TM	29000	Mess- station außer Betrieb (keine Probe)	26000	28000	13000	13000	12000	11000	10000	15000	14000	20000
Kobalt	mg/kg TM	18		15	14	6,8	7,4	6,7	6,1	5,5	8,8	8,8	12
Kupfer	mg/kg TM	76		64	65	37	42	40	39	39	57	56	65
Mangan	mg/kg TM	2800		2200	2000	940	1500	1500	1000	1500	2100	1900	2500
Nickel	mg/kg TM	34		31	32	16	17	16	15	14	18	17	24
Quecksilber	mg/kg TM	1,5		1,5	1,5	0,8	1	0,83	0,95	0,88	1,5	1,3	1,4
Selen	mg/kg TM	1,3		1,3	1,3	1,3	0,9	0,75	0,87	0,8	0,88	0,76	0,99
Silber	mg/kg TM	1,3		1,1	1,1	0,58	0,66	0,59	0,69	0,47	0,86	0,72	0,91
Thallium	mg/kg TM	0,48		0,41	0,45	0,26	0,3	0,3	0,24	0,2	0,3	0,28	0,36
Uran	mg/kg TM	1,6		1,6	1,7	1	1,1	0,97	0,87	0,8	0,98	0,9	1,2
Vanadium	mg/kg TM	38		44	46	24	25	22	17	14	18	17	23
Zink	mg/kg TM	760		630	690	470	530	490	430	410	530	490	590
Pentachlorbenzol	µg/kg TM	1,9		2,3	1,6	<1,0	1,1	1,1	<1,0	1,1	1,9	1,7	2
Hexachlorbenzol	µg/kg TM	34		43	29	13	13	15	11	13	21	24	44

Entnahme	Datum Start:	02.01.	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.
	Datum Ende:	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.	28.12.
Parameterbestimmung	Einheit												
PCB 28	µg/kg TM	<2,0		<2,0	4,1	<2,0	<2,0	4,4	4,7	4,8	<2,0	2,6	5,5
2.2'.5.5'-Tetrachlorbiphenyl (52)	µg/kg TM	<2,0		<2,0	3,4	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	3,3	2,2
2.2'.4.5.5'-Pentachlorbiphenyl (101)	µg/kg TM	4,4		<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	<4,0	5
2.3'.4.4'.5-Pentachlorbiphenyl (PCB 118)	µg/kg TM	1,7		1,8	1,6	1	1	0,75	0,81	0,76	0,96	1,2	1,3
2.2'.3.4.4'.5'-Hexachlorbiphenyl (138)	µg/kg TM	10		9,6	9,6	5,4	5,3	3,6	3,7	3	5,1	5,9	5,9
2.2'.4.4'.5.5'-Hexachlorbiphenyl (153)	µg/kg TM	6		5,9	6,3	3,4	3,3	2,5	2,6	2	3,7	4,1	3,9
2.2'.3.4.4'.5.5'-Heptachlorbiphenyl(180)	µg/kg TM	4,1		3,8	4	2	1,8	1,9	1,7	1,2	2,7	3	2,9
Summe Polybromdiphenylether laut WRRL	µg/kg TM	2		1,6	1,9	1,2	1,7	1	1,2	0,94	0,77	1	1,6
2,4,4'-Tribromdiphenylether(28)	µg/kg TM	<0,20		<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
2,2',4,4'-Tetrabromdiphenylether(47)	µg/kg TM	1,1		0,71	0,82	0,47	0,92	0,4	0,54	0,34	0,27	0,36	0,71
2,2',4,4',5-Pentabromdiphenylether(99)	µg/kg TM	0,53		0,45	0,66	0,36	0,35	0,23	0,22	0,2	<0,20	0,26	0,52
2,2',4,4',6-Pentabromdiphenylether(100)	µg/kg TM	<0,20		<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
2,2',4,4',5,5'-Hexabromdiphenylether(153)	µg/kg TM	<0,20		<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
2,2',4,4',5,6'-Hexabromdiphenylether(154)	µg/kg TM	<0,20		<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
BDE-209	µg/kg TM	110		230	150	79	30	35	32	41	30	63	44
DEHP	µg/kg TM	940		950	850	740	860	<250	<250	<250	390	530	630
Pentachlorphenol	µg/kg TM	1,5		1,4	2,5	0,95	1,9	0,52	<0,50	1	0,52	0,88	1,1
DDD, o.p'-	µg/kg TM	14		14	13	9,1	9,2	6,3	6,5	6,3	7,9	10	14
DDD, p.p'-	µg/kg TM	27		29	28	14	15	12	11	12	17	22	21
DDE, o.p'-	µg/kg TM	<2,0		<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
DDE, p.p'-	µg/kg TM	16		14	11	7	5,9	4,4	4,4	3,8	4,6	7,6	6,7
DDT Summe	µg/kg TM	88		120	120	80	31	74	55	31	53	90	73
DDT, o.p'-	µg/kg TM	5,5		12	7,3	2,5	<2,0	2,2	2,1	<2,0	2,6	4,1	6,1
DDT, p.p'-	µg/kg TM	39		61	70	56	9,1	55	37	14	29	56	39
DDX Summe	µg/kg TM	100		130	130	90	41	81	62	38	62	100	88

Mess-  
station  
außer  
Betrieb  
(keine  
Probe)

Entnahme	Datum Start:	02.01.	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.
	Datum Ende:	01.02.	01.03.	02.04.	27.04.	01.06.	29.06.	31.07.	31.08.	28.09.	31.10.	29.11.	28.12.
Parameterbestimmung	Einheit												
HCH, alpha	µg/kg TM	16		3,1	2,7	1,9	1,2	1,1	1,2	1,4	2	2,6	2,7
HCH, beta	µg/kg TM	22		17	14	9,2	4	3,7	3,3	7,9	19	8,7	17
Lindan	µg/kg TM	1,5		<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,4	<1,0
HCH, delta	µg/kg TM	2,1		1,3	1,1	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,1	2,4	1,2
HCH, epsilon	µg/kg TM	1,5		<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,3	<1,0
HCH Summe berechnet	µg/kg TM	43		22	19	13	6,7	6,3	6	11	23	16	22
Tricyclohexylzinn-Kation	µg/kg TM	<2,0		<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
Triphenylzinn-Kation	µg/kg TM	<2,0		<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
Monobutylzinn-Kation	µg/kg TM	17		41	34	10	8,2	1,3	<1,0	5,3	8,8	16	15
Dibutylzinn-Kation	µg/kg TM	11		120	14	19	11	<1,0	4	4,9	7	52	12
Tributylzinn-Kation	µg/kg TM	49		22	19	9	10	9,7	9,1	11	14	23	20
Tetrabutylzinn	µg/kg TM	6,2		10	4,1	13	7,4	7,6	3,9	2,8	4,7	3,2	3,3
Monooctylzinn-Kation	µg/kg TM	8		9,9	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,4	1,3	1,1	3	4
Diocetylzinn-Kation	µg/kg TM	7,3		<2,0	22	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	3,2	3

## Anhang II Stoffdaten des Quarzsands



## Quarzsand Frechen F 32 bis F 36

### STOFFDATEN

Die Frechener Quarzsandsorten F 32 bis F 36 sind aufbereitete, in ihren chemischen und physikalischen Kennwerten standardisierte Produkte. Sie werden in der Glasindustrie und in der chemischen Industrie sowie von anderen Verbrauchern als Rohstoff eingesetzt.

Der Rohsand der Lagerstätte Frechen wird im Tagebau mit Schaufelradbaggern gewonnen.

Die Aufbereitung umfasst die Entschlammung, Hydroklassierung und Trocknung des Quarzsandes. Die Sorten F 32, F 34 und F 36 werden direkt produziert. Die Sorten F 33 und F 35 entstehen als Mischsorten.

Der Frechener Quarzsand zeichnet sich durch hohe chemische Reinheit aus.

Sein SiO<sub>2</sub>-Gehalt liegt über 99%.

Alle Quarzsandsorten sind bunkerfeucht, getrocknet und gekühlt lieferbar.

### Typische Korngrößenverteilung und Körnungswerte

Quarzsand Frechen	F 32	F 33	F 34	F 35	F 36
AFS	59	62	66	73	80
mittlere Korngröße in mm	0,24	0,22	0,20	0,18	0,16
Theor. spez. Oberfläche in cm <sup>2</sup> /g	102	109	116	130	144
Kornklasse (mm)	Mengenanteil in Gew.-%				
> 0,355	5	3	1		
0,250 - 0,355	28	21	13	8	2
0,180 - 0,250	49	52	56	41	26
0,125 - 0,180	16	21	27	43	60
0,090 - 0,125	2	3	3	7	11
< 0,090				1	1

Fremdüberwacht nach DIN EN 12620

HS-Nr.: 2505 1000

Siebanalysen erfolgen mit "Vibrationssiebmaschine EML 200 digital plus" der Fa. Haver & Boecker (Siebdauer 5 Min; Amplitude 0,3 mm). Berechnungsgrundlage der Kennwerte (AFS, Oth, mK) ist das VDG-Merkblatt P27.

Quarzwerke GmbH  
Postfach 1780  
D-50207 Frechen

Kaskadenweg 40  
D-50226 Frechen

fon: +49 (0) 2234 /101-0  
fax: +49 (0) 2234 /101-400  
www.Quarzwerke.com

<1101> Seite 1/2 (02/09)

## Quarzwerke Stoffdaten

## Quarzsand Frechen F32 bis F36

**Typische physikalische Eigenschaften**

Linearer Ausdehnungskoeffizient $\alpha$ 20° - 300 °C	$14 \cdot 10^{-6} \text{K}^{-1}$
$\alpha$ 20° - 600 °C (DIN 51045)	$24 \cdot 10^{-6} \text{K}^{-1}$
Sinterbeginn	1.575 °C
Umwandlungstemperatur ( $\beta$ Quarz $\leftrightarrow$ $\alpha$ Quarz)	573 °C
Schüttwinkel für trockenen Quarzsand	$\alpha = 33^\circ$
Schüttgewicht, t/m <sup>3</sup>	1,4
Dichte (DIN EN ISO 787-10)	2,65 g/ml
Härte nach Mohs	7

**Typische chemische Analyse (Gew.-%)**

Quarzsand Frechen	F 32	F 33	F 34	F 35	F 36
SiO <sub>2</sub>	99,7	99,5	99,5	99,3	99,3
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,2	0,25	0,25	0,5	0,5
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,03	0,04	0,04	0,06	0,06
Glühverlust 1000 °C (DIN EN ISO 3262-1)	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2

Die Frechener Quarzsande sind aufbereitete natürliche Rohstoffe. Alle Daten sind Richtwerte mit vorkommens- und produktionsbedingter Toleranz. Sie dienen nur zur Beschreibung und stellen keine zugesicherten Eigenschaften dar. Größere und feinere Anteile sind in Spuren möglich.

Dem Benutzer obliegt es, die Tauglichkeit für seinen Verwendungszweck zu prüfen. Wir geben auf Wunsch gerne Auskunft über Toleranzbreiten und anwendungstechnische Erfahrungen. Verkäufe erfolgen gemäß unseren Verkaufs- und Lieferbedingungen.

### Anhang III Messergebnisse - Einfluss der Schüttelfrequenz auf die Fischembryonen

Für Anhang III gelten die folgenden Abkürzungen, die in Kapitel 2.8 ausführlich erklärt sind.

- N steht für einen normal entwickelten Keim
- K heißt der koagulierte Keim
- S steht für keine Schwanzablösung
- H bedeutet kein Herzschlag
- Geschl. heißt, dass der Embryo bereits geschlüpft ist
- n.w. nicht wiedergefunden

Tabelle III.1 Protokoll Einfluss der Schüttelfrequenz bei 60 rpm auf die Embryonen

Effekte bei den Embryonen nach 48h								Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
Probenbezeichnung	Einwaage in g								
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	K	H/S	H/S	H/S		5/0/5	
wässrig, Positivkontrolle 2	-	K	K	K	H/S	H/S		5/0/5	
wässrig, Positivkontrolle 3	-	K	H/S	H/S	H/S	K		5/0/5	
wässrig, Positivkontrolle 4	-	K	K	K	K	nur Hülle		4/1/5	100%
Quarz, Positivkontrolle 1	3,03	H	H/S	K	K	K		5/0/5	
Quarz, Positivkontrolle 2	2,98	K	K	K	K	K		5/0/5	
Quarz, Positivkontrolle 3	2,98	K	K	H/S	H/S	K		5/0/5	
Quarz, Positivkontrolle 4	2,99	K	K	K	K	K		5/0/5	100%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N	N	N	N	N		0/0/5	
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N	N	N	N	K		1/0/5	
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N	N	N	N	N, geschl.		0/0/5	
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N	N	N	N	N		0/0/5	5%
Quarz, Negativkontrolle 1	3,02	N	N	N	N	N		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 2	2,98	N	N	N	N	N, geschl.		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 3	3,01	N	N	N	N	N.w.		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 4	3,02	N	N	N	N	N		0/0/5	0%
Quarz, Negativkontrolle 5	2,98	N	N	N	N	N, geschl.		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 6	2,98	N	N	N	N	H		1/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 7	3,03	N	N	N	N	N		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 8	3,03	N	N	N	N, geschl.	N, geschl.		0/0/5	5%

Letale Effekte der Embryonen bei 60 rpm: 2,6 %

Tabelle III.2 Protokoll Einfluss der Schüttelfrequenz bei 70 rpm auf die Embryonen

Effekte bei den Embryonen nach 48h								Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
Probenbezeichnung	Einwaage in g								
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	H/S	H/S	H/S	H/S		5/0/5	
wässrig, Positivkontrolle 2	-	K	H/S	H/S	H	H/S		5/0/5	
wässrig, Positivkontrolle 3	-	K	H/S	N	H/S	H		5/0/5	
wässrig, Positivkontrolle 4	-	K	K	H/S	H/S	H/S		5/0/5	95%
Quarz, Positivkontrolle 1	3,03	H/S	H/S	H, geschl.	K	n.w.		4/1/5	
Quarz, Positivkontrolle 2	3,00	K	H/S	H/S	K	H		5/0/5	
Quarz, Positivkontrolle 3	2,97	H/S	H/S	H	H/S	H/S		5/0/5	
Quarz, Positivkontrolle 4	3,00	N	H	K	K	H		5/0/5	100%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N	N	N	N, geschl.	N, geschl.		0/0/5	
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N	N	N	N, geschl.	N, geschl.		0/0/5	
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N	N	N	N, geschl.	N, geschl.		0/0/5	
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N	N	N	N	K		1/0/5	5%
Quarz, Negativkontrolle 1	3,00	N	N	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 2	3,03	N	N	N	N	N, geschl.		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 3	3,01	N	N	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 4	2,97	N		N	N	N		0/0/5	0%
Quarz, Negativkontrolle 5	2,98	N	N	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 6	3,03	N	N	N, geschl.	N, geschl.	n.w.		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 7	3,02	N	N	N	N	N		0/0/5	
Quarz, Negativkontrolle 8	3,03	N	N	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.		0/0/5	0%

Letale Effekte der Embryonen bei 70 rpm: 0 %

Tabelle III.3 Protokoll Einfluss der Schüttelfrequenz bei 80 rpm auf die Embryonen

Effekte bei den Embryonen nach 48h								
Probenbezeichnung	Einwaage in g						Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	K	H:S	H:S	H:S	5/ 0/5	
wässrig, Positivkontrolle 2	-	K	K	K	H:S	H:S	5/ 0/5	
wässrig, Positivkontrolle 3	-	K	K	H:S	H:S	H:S	5/ 0/5	
wässrig, Positivkontrolle 4	-	K	K	K	H:S	H:S	5/ 0/5	100%
Quarz, Positivkontrolle 1	3,00	K	H:S	H:S	H:S	H	5/ 0/5	
Quarz, Positivkontrolle 2	3,02	K	K	H:S	H:S	N	4/ 0/5	
Quarz, Positivkontrolle 3	2,99	K	K	K	H:S	H:S	5/ 0/5	
Quarz, Positivkontrolle 4	3,02	K	K	H:S	H:S	n.w.	4/ 1/5	95%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N	N	N	N	K	1/ 0/ 5	
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N	N	N	N	N	0 / 0/5	5%
Quarz, Negativkontrolle 1	3,01	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 2	2,98	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 3	3,02	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 4	2,97	N	N	N	N	K	1 / 0/5	5%
Quarz, Negativkontrolle 5	3,02	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 6	3,03	N	N	N	N	K	1 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 7	3,00	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 8	2,97	N	N	N	N	N	0 / 0/5	5%
Letale Effekte der Embryonen bei 80 rpm: 5 %								

Tabelle III.4 Protokoll Einfluss der Schüttelfrequenz bei 90 rpm auf die Embryonen

Effekte bei den Embryonen nach 48h								
Probenbezeichnung	Einwaage in g						Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	K	H:S	H:S	H:S	5/ 0/ 5	
wässrig, Positivkontrolle 2	-	K	K	H:S	H:S	H:S	5/ 0/ 5	
wässrig, Positivkontrolle 3	-	K	K	K	H:S	H:S	5/ 0/ 5	
wässrig, Positivkontrolle 4	-	K	K	K	K	K	5/ 0/ 5	100%
Quarz, Positivkontrolle 1	3,03	K	K	H:S	H:S	H	5/ 0/ 5	
Quarz, Positivkontrolle 2	3,03	K	H:S	H:S	H:S	H:S	5/ 0/ 5	
Quarz, Positivkontrolle 3	2,98	K	K	H:S	H:S	H:S	5/ 0/ 5	
Quarz, Positivkontrolle 4	3,03	K	H:S	H:S	H	H	5/ 0/ 5	100%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N, geschl.	0 / 0/5					
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N	N	N	N	n.w.	0 / 1/5	
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N, geschl.	N, geschl.	N	N	N	0 / 0/5	
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N, geschl.	0 / 0/5	0%				
Quarz, Negativkontrolle 1	2,99	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 2	2,97	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 3	2,98	N, geschl.	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 4	3,02	N, geschl.	N, geschl.	N	N	N	0 / 0/5	0%
Quarz, Negativkontrolle 5	2,99	N	N	N	N	N	0 / 0/5	
Quarz, Negativkontrolle 6	2,98	N	N	N	N	n.w.	0 / 1/5	
Quarz, Negativkontrolle 7	3,00	N	N	N	N, geschl.	n.w.	0 / 1/5	
Quarz, Negativkontrolle 8	3,02	N	N	N	N	N	0 / 0/5	0%
Letale Effekte der Embryonen bei 90 rpm: 0 %								

Tabelle III.5 Protokoll Einfluss der Schüttelfrequenz bei 100 rpm auf die Embryonen

Effekte bei den Embryonen nach 48h								
Probenbezeichnung	Einwaage in g						Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	H:S	H:S	H:S	H:S	5 / 0 / 5	
wässrig, Positivkontrolle 2	-	K	K	H:S	H:S	H:S	5 / 0 / 5	
wässrig, Positivkontrolle 3	-	K	H:S	H:S	H:S	H:S	5 / 0 / 5	
wässrig, Positivkontrolle 4	-	K	H:S	H:S	H:S	H:S	5 / 0 / 5	100%
Quarz, Positivkontrolle 1	3,00	K	K	K	H:S	H	5 / 0 / 5	
Quarz, Positivkontrolle 2	3,00	K	H:S	H:S	H:S	n.w.	4 / 1 / 5	
Quarz, Positivkontrolle 3	3,02	K	K	K	H:S	H:S	5 / 0 / 5	
Quarz, Positivkontrolle 4	3,03	K	K	H:S	H:S	n.w.	4 / 1 / 5	100%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.	0 / 0 / 5	
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N, geschl.	N	N	N	H	1 / 0 / 5	
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.	0 / 0 / 5	
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.	N, geschl.	0 / 0 / 5	5%
Quarz, Negativkontrolle 1	2,97	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 2	3,00	N	N	N	N	K	1 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 3	2,99	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 4	3,02	N	N	N	N	K	1 / 0 / 5	10%
Quarz, Negativkontrolle 5	2,97	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 6	3,01	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 7	3,02	N	N	N	N	K	1 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 8	2,99	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	5%
Letale Effekte der Embryonen bei 100 rpm: 7,5 %								

Tabelle III.6 Protokoll Einfluss der Schüttelfrequenz bei 110 rpm auf die Embryonen

Effekte bei den Embryonen nach 48h								
Probenbezeichnung	Einwaage in g						Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	K	K	K	K	5 / 0 / 5	
wässrig, Positivkontrolle 2	-	H:S	H:S	K	K	K	5 / 0 / 5	
wässrig, Positivkontrolle 3	-	H:S	K	K	K	K	5 / 0 / 5	
wässrig, Positivkontrolle 4	-	H:S	H:S	K	K	K	5 / 0 / 5	100%
Quarz, Positivkontrolle 1	2,98	H:S	H:S	K	K	K	5 / 0 / 5	
Quarz, Positivkontrolle 2	3,02	H:S	H:S	H:S	K	K	5 / 0 / 5	
Quarz, Positivkontrolle 3	3,01	K	K	K	K	K	5 / 0 / 5	
Quarz, Positivkontrolle 4	2,99	H:S	H:S	K	K	K	5 / 0 / 5	100%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	K	N	N	N	-	1 / 1 / 5	
wässrig, Negativkontrolle 2	-	K	N	N	N	N	1 / 0 / 5	
wässrig, Negativkontrolle 3	-	K	N	N	N	N	1 / 0 / 5	
wässrig, Negativkontrolle 4	-	K	N	N	N	N	1 / 0 / 5	21%
Quarz, Negativkontrolle 1	3,00	K	N	N	N	N	1 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 2	3,03	K	N	N	N	N	1 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 3	2,97	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 4	3,00	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	10%
Quarz, Negativkontrolle 5	3,02	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 6	2,98	K	K	N	N	N	2 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 7	3,02	N	N	N	N	N	0 / 0 / 5	
Quarz, Negativkontrolle 8	2,98	N	N	N	N	n.w.	1 / 0 / 5	11%
Letale Effekte der Embryonen bei 110 rpm: 10,3 %								

## Anhang IV Messergebnisse - Sauerstoffmessung bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm

Tabelle IV.1 Daten zur Sauerstoffmessung über 8 Stunden der Schwebstoffe aus März bei 80 rpm

Kalibrierung	Phase	Temperatur
0%	58,45°	19,8°C
100%	27,69°	19,8°C

Versuchstag	Einwaage	Einwaage	Einwaage	Einwaage	
04.06.2013	3,02g/11ml	3,00g/11ml	3,01g/6ml	3,03g/6ml	
Messzeitpkt. [Minuten]	Bunthaus 1 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Bunthaus 2 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Seemannshöft1 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Seemannshöft2 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Zeit [h]
0	8,19	8,1	8,66	8,61	0
15	7,52	7,84	8,1	8,14	0,25
30	7,48	7,03	8,01	8,1	0,5
45	6,8	7,04	7,71	7,48	0,75
60	6,9	5,85	7,61	7,6	1
75	6,65	5,72	7,43	7,4	1,25
90	6,08	5,41	7,31	7,47	1,5
105	6,5	6,2	7,14	7,49	1,75
120	6,57	6,49	7,29	7,22	2
150	6,24	6,12	7,44	7,51	2,5
180	6,61	6,3	7,32	7,47	3
210	6,73	6,82	7,45	7,71	3,5
300	6,42	6,61	7,63	7,5	5
330	6,69	6,7	7,67	7,73	5,5
360	6,38	6,72	7,38	7,71	6
390	6,11	6,62	7,55	7,59	6,5
420	6,29	6,54	7,65	7,68	7
450	6,44	6,27	7,62	7,66	7,5
480	6,28	6,22	7,37	7,51	8
1440	1,55	1,5	5,51	6,63	24
1470	1,02	2,47	6,5	6,67	24,5
1680	1,92	2,55	6,16	6,61	28
2880	0,7	1,4	6,4	7,23	48
4320	5,18	2,84	6,86	7,21	72

Kalibrierung	Phase	Temperatur
0%	57,65°	19,1°C
100%	27,74°	19,1°C

Versuchstag	Einwaage	Einwaage	Einwaage	Einwaage	
05.06.2013	2,98g/11ml	2,98g/11ml	2,97g/6ml	2,98g/6ml	
Messzeitpkt. [Minuten]	Bunthaus 1 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Bunthaus 2 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Seemannshöft1 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Seemannshöft2 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Zeit [h]
0	8,22	8,74	8,77	8,93	0
8	7,88	8,14	8,46	8,64	0,13
15	7,32	7,82	8,13	8,19	0,25
20	7,12	7,64	8,07	8,14	0,33
26	6,33	7,11	7,87	7,81	0,43
33	6,64	7,07	7,81	7,72	0,55
40	5,75	6,86	7,76	7,68	0,67
47	6,45	7,02	7,57	7,52	0,78
55	6,66	7,33	7,59	7,6	0,92
62	6,53	7,03	7,53	7,44	1,03
70	6,35	6,81	7,44	7,49	1,17
80	6,03	6,87	7,55	7,34	1,33
90	6,17	6,7	7,46	7,52	1,5
100	6,46	6,61	7,59	7,47	1,67
110	6,26	7,11	7,47	7,54	1,83
120	5,87	6,5	7,27	7,34	2
135	6,36	7,26	7,4	7,51	2,25
150	6,3	6,17	7,54	7,46	2,5
165	6,5	7,03	7,51	7,48	2,75
180	6,62	6,9	7,61	7,51	3
210	6,43	7,01	7,6	7,47	3,5
240	6,87	6,78	7,36	7,68	4
270	6,68	6,65	7,61	7,65	4,5
300	6,44	6,33	7,54	7,56	5
330	6,58	6,62	7,66	7,47	5,5
390	5,47	6,58	7,55	7,15	6,5
420	5,77	6,31	7,51	7,45	7
450	5,7	6,17	7,37	7,48	7,5
480	5,25	5,29	7,25	7,4	8
1680	2,52	3,15	7,44	6,77	28
3060	2,59	3,26	6,92	6,97	51

Tabelle IV.2 Daten zur Sauerstoffmessung über 48 Stunden der Schwebstoffe aus März/April Bunthaus bei 80 rpm

Kalibrierung	Phase	Temperatur
0%	56,8°	19,9°C
100%	27,55°	19,7°C

Tabelle IV.2.1 Messungen Sauerstoffkonzentration des Monats März aus Bunthaus über 48 Stunden bei 80 rpm

Messzeitpkt. [Minuten]	Zeit in h	Bunthaus1 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Bunthaus 2 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Messzeitpkt. [Minuten]	Bunthaus3 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Bunthaus4 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Messzeitpkt. [Stunden]
0	0	8,19	8,1	0	8,22	8,74	0
15	0,25	7,52	7,84	8	7,88	8,14	0,13
30	0,5	7,48	7,03	15	7,32	7,82	0,25
45	0,75	6,8	7,04	20	7,12	7,64	0,33
60	1	6,9	5,85	26	6,33	7,11	0,43
75	1,25	6,65	5,72	33	6,64	7,07	0,55
90	1,5	6,08	5,41	40	5,75	6,86	0,67
105	1,75	6,5	6,2	47	6,45	7,02	0,78
120	2	6,57	6,49	55	6,66	7,33	0,92
150	2,5	6,24	6,12	62	6,53	7,03	1,03
180	3	6,61	6,3	70	6,35	6,81	1,17
210	3,5	6,73	6,82	80	6,03	6,87	1,33
300	5	6,42	6,61	90	6,17	6,7	1,5
330	5,5	6,69	6,7	100	6,46	6,61	1,67
360	6	6,38	6,72	110	6,26	7,11	1,83
390	6,5	6,11	6,62	120	5,87	6,5	2
420	7	6,29	6,54	135	6,36	7,26	2,25
450	7,5	6,44	6,27	150	6,3	6,17	2,5
480	8	6,28	6,22	165	6,5	7,03	2,75
1440	24	1,55	1,5	180	6,62	6,9	3
1470	24,5	1,02	2,47	210	6,43	7,01	3,5
1680	28	1,92	2,55	240	6,87	6,78	4
2880	48	0,7	1,4	270	6,68	6,65	4,5
4320	72	5,18	2,84	300	6,44	6,33	5
				330	6,58	6,62	5,5
				390	5,47	6,58	6,5
				420	5,77	6,31	7
				450	5,7	6,17	7,5
				480	5,25	5,29	8
				1680	2,52	3,15	28
				3060	2,59	3,26	51

Tabelle IV.2.2 Messungen Sauerstoffkonzentration des Monats April aus Bunthaus über 48 Stunden bei 80 rpm

Messzeitpkt. [Minuten]	Messzeitpkt. [Stunden]	Bunthaus1 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Messzeitpkt. [Minuten]	Messzeitpkt. [Stunden]	Bunthaus2 [mg/L O <sub>2</sub> ]
0	0	7,37	0	0	7,71
120	2	3,86	720	12	0,02
240	4	4,71	840	14	0,02
360	6	4,35	960	16	0,03
480	8	4,54	1080	18	0,03
600	10	0,13	1200	20	0,03
720	12	0,02	1440	24	0,03
1440	24	0,02	2160	36	0,04
1560	26	0,02	2280	38	0,04
1680	28	0,02	2400	40	0,03
1800	30	0,02	2520	42	0,04
1920	32	0,03	2640	44	0,04
2040	34	0,03	3600	60	0,04
2160	36	0,05	3720	62	0,03
2880	48	0,03	3840	64	0,04
3000	50	0,02	3960	66	0,02
3120	52	0,03			
3240	54	0,03			
4320	72	0,03			
4440	74	0,03			
4560	76	0,03			
4680	78	0,03			

Tabelle IV.3 Daten zur Sauerstoffmessung über 48 Stunden der Schwebstoffe aus März/April Seemannshöft bei 80 rpm

Kalibrierung		
0%	56,8°	19,9°C
100%	27,55°	19,7°C

Tabelle IV.3.1 Messungen Sauerstoffkonzentration des Monat März aus Seemannshöft (SH) über 48 Stunden bei 80 rpm

Messzeitpkt. [Minuten]	Messzeitpkt. [Minuten]	SH1 [mg/L O <sub>2</sub> ]	SH2 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Messzeitpkt. [Minuten]	SH3 [mg/L O <sub>2</sub> ]	SH3 [mg/L O <sub>2</sub> ]
0	0	8,66	8,61	0	8,77	8,93
15	0,25	8,1	8,14	8	8,46	8,64
30	0,5	8,01	8,1	15	8,13	8,19
45	0,75	7,71	7,48	20	8,07	8,14
60	1	7,61	7,6	26	7,87	7,81
75	1,25	7,43	7,4	33	7,81	7,72
90	1,5	7,31	7,47	40	7,76	7,68
105	1,75	7,14	7,49	47	7,57	7,52
120	2	7,29	7,22	55	7,59	7,6
150	2,5	7,44	7,51	62	7,53	7,44
180	3	7,32	7,47	70	7,44	7,49
210	3,5	7,45	7,71	80	7,55	7,34
300	5	7,63	7,5	90	7,46	7,52
330	5,5	7,67	7,73	100	7,59	7,47
360	6	7,38	7,71	110	7,47	7,54
390	6,5	7,55	7,59	120	7,27	7,34
420	7	7,65	7,68	135	7,4	7,51
450	7,5	7,62	7,66	150	7,54	7,46
480	8	7,37	7,51	165	7,51	7,48
1440	24	5,51	6,63	180	7,61	7,51
1470	24,5	6,5	6,67	210	7,6	7,47
1680	28	6,16	6,61	240	7,36	7,68
2880	48	6,4	7,23	270	7,61	7,65
4320	72	6,86	7,21	300	7,54	7,56
				330	7,66	7,47
				390	7,55	7,15
				420	7,51	7,45
				450	7,37	7,48
				480	7,25	7,4
				1688	7,44	6,77
				3060	6,92	6,97

Tabelle IV.3.2 Messungen Sauerstoffkonzentration des Monat April aus Seemannshöft (SH) über 48 Stunden bei 80 rpm

Messzeitpkt. [Minuten]	Messzeitpkt. [Stunden]	SH1 [mg/L O <sub>2</sub> ]	Messzeitpkt. [Minuten]	Messzeitpkt. [Stunden]	SH2 [mg/L O <sub>2</sub> ]
0	0	9,01	0	0	8,97
120	2	6,44	720	12	4,16
240	4	6,11	840	14	4,11
360	6	6,29	960	16	2,97
480	8	6,37	1080	18	3,4
600	10	2,77	1200	20	3,31
720	12	0,73	1320	22	3,18
1440	24	3,22	1440	24	4,25
1560	26	3,55	2280	38	4,21
1680	28	4,25	2400	40	4,99
1800	30	5,15	2520	42	4,61
1920	32	4,82	2640	44	4,77
2160	36	4,73	3600	60	5,18
2880	48	4,81	3720	62,00	5,41
3000	50	4,67	3840	64,00	5,89
3120	52	4,51	3960	66,00	5,76
3240	54	4,68			
3360	56	5,25			
4320	72	5,35			
4440	74	5,38			
4560	76	5,47			
4680	78	5,41			

## Anhang V Messergebnisse - Vorinkubation und Toxizität

Für Anhang V gelten die folgenden Abkürzungen, die in Kapitel 2.8 ausführlich erklärt sind.

- N steht für einen normal entwickelten Keim
- K heißt der koagulierte Keim
- S steht für keine Schwanzablösung
- H bedeutet kein Herzschlag
- Geschl. heißt, dass der Embryo bereits geschlüpft ist
- n.w. nicht wiedergefunden

## Versuchsprotokoll V.1 Fischeis sedimentkontakttest Bunthaus März und April auf 80rpm

Versuchsvorbereitung	02.07.2013	Datum	Eiablage 8:15					pH-Wert Verdünnungswasser 8,79 eingestellt auf 7,07 O <sub>2</sub> -Gehalt des Verdünnungswassers 8,8 mg/L	
Versuchsbeginn (Datum)	03.07.2013	9:15 95 % Befruchtungsrate							
Probenbezeichnung	Einwaage in g	Effekte bei den Embryonen nach 48h					Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität	
		1	2	3	4	5			
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	K	K	H;S	H;S	5/0/5	-	
wässrig, Positivkontrolle 2	-	H	K	K	K	K	5/0/5	-	
wässrig, Positivkontrolle 3	-	H;S	K	K	K	K	5/0/5	-	
wässrig, Positivkontrolle 4	-	H;S	H;S	K	K	K	5/0/5	100%	
Quarz, Positivkontrolle 1	2,98	H;S	H;S	H;S	H	K	5/0/5	-	
Quarz, Positivkontrolle 2	3,03	N	K	K	H;S	H;S	4/1/5	-	
Quarz, Positivkontrolle 3	3,01	H;S	H;S	H;S	K	K	5/0/5	-	
Quarz, Positivkontrolle 4	3,01	K	K	H;S	H;S	H	5/0/5	95%	
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-	
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-	
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-	
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N	N	N	N	K	1/0/5	5%	
Quarz, Negativkontrolle 1	2,98	N	N;ges.	N	N	K	1/0/5	-	
Quarz, Negativkontrolle 2	3,03	N;ges.	N;ges.	N	N	N	0/0/5	-	
Quarz, Negativkontrolle 3	2,97	N;ges.	N	N	N	N	0/0/5	-	
Quarz, Negativkontrolle 4	2,98	N;ges.	N;ges.	N	N	N	0/0/5	5%	
Probe 1 Bunthaus März	2,97	K	K	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-	
Probe 2 Bunthaus März	2,97	K	K	K	H;S	H	5/0/5	-	
Probe 3 Bunthaus März	2,97	K	K	K	K	K	5/0/5	-	
Probe 4 Bunthaus März	2,97	K	K	K	K	K	5/0/5	100%	
Probe 5 Bunthaus April	3,03	K	K	K	K	n.w.	4/1/5	-	
Probe 6 Bunthaus April	2,97	K	K	K	K	K	5/0/5	-	
Probe 7 Bunthaus April	3,00	K	K	K	K	n.w.	4/1/5	-	
Probe 8 Bunthaus April	3,03	K	K	K	K	K	5/0/5	100%	

## Versuchsprotokoll V.2 Fischeis sedimentkontakttest Seemannshöft März und April auf 80rpm

Versuchsvorbereitung	28.06.2013	Datum	Eiablage 8:30		pH-Wert Verdünnungswasser 8,79 eingestellt auf 7,15 O <sub>2</sub> -Gehalt des Verdünnungswassers 8,8 mg/L			
Versuchsbeginn (Datum)	29.06.2013	9:00 95 % Befruchtungsrate						
Probenbezeichnung	Einwaage in g	Effekte bei den Embryonen nach 48h					Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
		1	2	3	4	5		
wässrig, Positivkontrolle 1	-	H	H	H	H	K	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 2	-	H	H	K	K	K	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 3	-	H;S	H;S	H	K	K	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 4	-	H;S	K	K	K	K	5/0/5	100%
Quarz, Positivkontrolle 1	2,98	K	K	K	K	K	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 2	3,03	H;S	K	K	K	K	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 3	2,98	H;S	H;S	H	H	K	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 4	2,99	K	K	H;S	H	H	5/0/5	100%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N	N	N	N	K	1/0/5	5%
Quarz, Negativkontrolle 1	3,02	N	N	N	N	K	1/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 2	2,98	N	N	N	N	N	0/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 3	3,00	N	N	N	N	N	0/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 4	3,02	N	N	N	N	N	0/0/5	5%
Probe 1 Seemannshöft März	3,02	N	N	N	N	K	1/0/5	-
Probe 2 Seemannshöft März	3,03	N	N	N	K	n.w.	1/1/5	-
Probe 3 Seemannshöft März	2,99	N	N	N	N	n.w.	0/1/5	-
Probe 4 Seemannshöft März	3,00	N	N	N	N	K	1/0/5	16,7%
Probe 5 Seemannshöft April	3,03	N	N	N	N	N	0/0/5	-
Probe 6 Seemannshöft April	3,03	N	N	K	K	K	3/0/5	-
Probe 7 Seemannshöft April	3,00	K	H	N	N	N	2/0/5	-
Probe 8 Seemannshöft April	3,02	N	N	N	N	N	0/0/5	25%

## Versuchsprotokoll V.3 Fischeis sedimentkontakttest Bunthaus und Seemannshöft Mai 80 rpm

Versuchsvorbereitung	08.07.2013	Datum		Eiablage 8:30			pH-Wert Verdünnungswasser 8,79 eingestellt auf 7,15 O <sub>2</sub> -Gehalt des Verdünnungswassers 8,8 mg/L	
Versuchsbeginn (Datum)	09.07.2013	9:30 97 % Befruchtungsrate						
Probenbezeichnung	Einwaage in g	Effekte bei den Embryonen nach 48h					Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
		1	2	3	4	5		
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	H;S	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 2	-	K	K	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 3	-	K	K	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 4	-	K	H;S	H;S	H;S	H;S	5/0/5	100%
Quarz, Positivkontrolle 1	2,94	H;S	H;S	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 2	3,03	K	K	K	K	H;S	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 3	2,98	K	K	K	H;S	H;S	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 4	2,97	K	K	H;S	H;S	H;S	5/0/5	100%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N	N	N	N	K	1/0/5	5%
Quarz, Negativkontrolle 1	2,99	N	N	N	N	N	0/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 2	3,03	N	N	N	N	N	0/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 3	3,01	N*	N	N	N	N	0/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 4	3,01	N	N	N	N	N	0/0/5	0%
Probe 1 Seemannshöft Mai	3,03	N	N	K	K	n.w.	2/1/5	-
Probe 2 Seemannshöft Mai	2,97	N	N	H	H	n.w.	2/1/5	-
Probe 3 Seemannshöft Mai	2,99	N	N	H	H	n.w.	2/1/5	-
Probe 4 Seemannshöft Mai	3,01	H;S	K	H;S	H;S	H;S	5/0/5	65%
Probe 5 Bunthaus Mai	2,99	K	K	K	K	K	5/0/5	-
Probe 6 Bunthaus Mai	3,01	K	K	K	K	K	5/0/5	-
Probe 7 Bunthaus Mai	2,98	K	K	K	K	K	5/0/5	-
Probe 8 Bunthaus Mai	2,99	K	K	K	K	n.w.	4/1/5	25%

## Versuchsprotokoll V.4 Fischeis sedimentkontakttest Hochwasserprobe-Schwebstoffe 11. und 13. Juni 2013 80rpm

Versuchsvorbereitung	08.07.2013	Datum	Eiablage 8:30		pH-Wert Verdünnungswasser 8,79 eingestellt auf 7,15 O <sub>2</sub> -Gehalt des Verdünnungswassers 8,8 mg/L			
Versuchsbeginn (Datum)	09.07.2013	9:30 97 % Befruchtungsrate						
Probenbezeichnung	Einwaage in g	Effekte bei den Embryonen nach 48h					Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier/ Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität
		1	2	3	4	5		
wässrig, Positivkontrolle 1	-	K	H;S	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 2	-	K	K	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 3	-	K	K	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-
wässrig, Positivkontrolle 4	-	K	H;S	H;S	H;S	H;S	5/0/5	100%
Quarz, Positivkontrolle 1	2,94	H;S	H;S	H;S	H;S	H;S	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 2	3,03	K	K	K	K	H;S	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 3	2,98	K	K	K	H;S	H;S	5/0/5	-
Quarz, Positivkontrolle 4	2,97	K	K	H;S	H;S	H;S	5/0/5	100%
wässrig, Negativkontrolle 1	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 2	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 3	-	N	N	N	N	N	0/0/5	-
wässrig, Negativkontrolle 4	-	N	N	N	N	K	1/0/5	5%
Quarz, Negativkontrolle 1	2,99	N	N	N	N	N	0/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 2	3,03	N	N	N	N	N	0/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 3	3,01	N*	N	N	N	N	0/0/5	-
Quarz, Negativkontrolle 4	3,01	N	N	N	N	N	0/0/5	0%
Probe 1 Hochwasser 11.6.	2,98	K	K	K	K	K	5/0/5	-
Probe 2 Hochwasser 11.6.	2,99	K	K	K	n.w.	n.w.	3/2/5	-
Probe 3 Hochwasser 11.6.	2,97	K	K	n.w.	n.w.	n.w.	2/3/5	-
Probe 4 Hochwasser 11.6.	3,03	K	K	K	n.w.	n.w.	3/2/5	100%
Probe 5 Hochwasser 13.6.	2,99	K	K	K	K	K	5/0/5	-
Probe 6 Hochwasser 13.6.	2,97	K	K	K	K	K	5/0/5	-
Probe 7 Hochwasser 13.6.	2,98	K	K	K	K	K	5/0/5	-
Probe 8 Hochwasser 13.6.	2,99	K	K	K	K	n.w.	4/1/5	100%

## Versuchsprotokoll V.5: Vorinkubation zur Verbesserung der Sauerstoffkonzentration

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L] Start	O <sub>2</sub> [mg/L] Ende
Probe 1 Bunthaus März	0,37	1,68
Probe 2 Bunthaus März	0,41	1,78
Probe 3 Bunthaus März	0,04	0,07
Probe 4 Bunthaus März	0,11	0,05
Probe 5 Bunthaus April	0,04	0,05
Probe 6 Bunthaus April	0,03	0,04
Probe 7 Bunthaus April	0,07	0,05
Probe 8 Bunthaus April	0,05	0,05

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L] Start	O <sub>2</sub> [mg/L] Ende
Probe 1 Seemannshöft März	5,45	6,82
Probe 2 Seemannshöft März	5,77	6,48
Probe 3 Seemannshöft März	6,15	7,01
Probe 4 Seemannshöft März	5,65	6,81
Probe 5 Seemannshöft April	3,11	5,16
Probe 6 Seemannshöft April	3,23	5,71
Probe 7 Seemannshöft April	3,61	5,6
Probe 8 Seemannshöft April	4,09	3,93

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L] Start	O <sub>2</sub> [mg/L] Ende
Probe 1 Seemannshöft Mai	2,77	4,97
Probe 2 Seemannshöft Mai	2,11	3,88
Probe 3 Seemannshöft Mai	1,13	4,29
Probe 4 Seemannshöft Mai	1,25	4,44
Probe 5 Bunthaus Mai	0,07	0,05
Probe 6 Bunthaus Mai	0,02	0,04
Probe 7 Bunthaus Mai	0,05	0,07
Probe 8 Bunthaus Mai	0,15	0,09

Probenbezeichnung	O <sub>2</sub> [mg/L] Start	O <sub>2</sub> [mg/L] Ende
Probe 1 Hochwasser 11.6.	0,15	0,08
Probe 2 Hochwasser 11.6.	0,18	0,06
Probe 3 Hochwasser 11.6.	0,16	0,05
Probe 4 Hochwasser 11.6.	0,01	0,05
Probe 5 Hochwasser 13.6.	1,25	0,05
Probe 6 Hochwasser 13.6.	0,16	0,07
Probe 7 Hochwasser 13.6.	0,35	0,08
Probe 8 Hochwasser 13.6.	0,05	0,06



## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 1 von 18

Entwurf

Gültig ab:

# Bestimmung der Wirkung von Sedimentproben auf die Entwicklung von Fischeiern (Fischei-Sedimentkontakttest)

### Arbeitsexemplar für

- Arbeitsplatz       SOP Sammlung HU41  
                               Zentrales QMH  
 Regi

- Informationsexemplar** (unterliegt nicht dem Änderungsdienst)

	Name	Datum	Unterschrift



## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 2 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### Inhaltsübersicht

<b>1</b>	<b>Inhaltsübersicht</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Geltungsbereich, Messverfahren, Verantwortlichkeiten</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Chemikalien und Geräte</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Probenahme, Probenkonservierung, Probenlagerung</b>	<b>5</b>
<b>5</b>	<b>Ansetzen, Lagerung und Handhabung der Standardlösungen und Reagenzien</b>	<b>8</b>
<b>6</b>	<b>Hälterung und Zucht</b>	<b>9</b>
<b>7</b>	<b>Sauerstoffmessung</b>	<b>10</b>
<b>8</b>	<b>Proben- und Testvorbereitung</b>	<b>11</b>
<b>9</b>	<b>Messung, Auswertung, Ergebnisse, Dokumentation</b>	<b>13</b>
<b>10</b>	<b>Qualitätssicherungsmaßnahmen</b>	<b>15</b>
<b>11</b>	<b>Gerätewartung und Wartungsintervalle</b>	<b>16</b>
<b>12</b>	<b>Hinweise zur Fehlersuche</b>	<b>16</b>
<b>13</b>	<b>Entsorgung von Reagenzien</b>	<b>17</b>
<b>14</b>	<b>Reinigung der Glaswaren</b>	<b>17</b>
<b>15</b>	<b>Liste der Änderungen</b>	<b>18</b>

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 3 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### 2 Geltungsbereich, Messverfahren, Verantwortlichkeiten

Fische spielen als Konsumenten eine wichtige Rolle in aquatischen Nahrungsketten. Für den Fischei-Test dienen Eier des Zebraärbings (*Danio rerio*). Der Zebraärbing gehört innerhalb der Klasse der Knochenfische (*Osteichthyes*) zur Familie der Karpfenfische (*Cyprinidae*). Zebraärblinge können leicht gezüchtet werden und produzieren das ganze Jahr über Eier. Die Embryonalentwicklung ist in der Literatur gut beschrieben. Die Entwicklung der Fischeembryonen kann durch Wasserinhaltsstoffe beeinträchtigt werden.<sup>1</sup>

Der Fischei-Sedimentkontakttest wird in Anlehnung an die DIN EN ISO 15088 – T6 (DIN 38415-6, Stand: Juni 2009) durchgeführt. Die Testdauer beträgt 48 Stunden bei einer Temperatur von 26°C. Als toxikologische Endpunkte dienen der Tod der Embryonen durch Koagulation der Eier, die nicht erfolgte Schwanzablösung vom Dotter, der fehlender Herzschlag, eine fehlende Blutzirkulation und ein Herzödem.

Darüber hinaus ist die „Empfehlung für die Haltung, den Transport und das tierschutzgerechte Töten von Versuchsfischen“ der Tierärztlichen Vereinigung e.V. (Stand: Jan 2009) zu beachten.

Verantwortlich ist der biologische Laborbereich HU411. Er ist bei Unregelmäßigkeiten oder Fragen zu den Proben oder zu diesem Verfahren einzuschalten.<sup>2</sup>

### 3 Chemikalien und Geräte

CaCl<sub>2</sub> x 2 H<sub>2</sub>O, p.a., z.B. Merck Art. 2382

MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O, p.a., z.B. Merck Art. 5886

KCl, p.a., z.B. Merck Art. 4936

NaHCO<sub>3</sub>, p.a., z.B. Merck Art. 6329

3,4-Dichloranilin (3,4-DCA)

HCl 0,1 n, Merck Art 1.09060.1000

NaOH 0,1 n, Merck Art 1.09137.1000

Technischer Puffer: pH 4,0; 7,0; 6,865

Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 1g/100ml zur Kalibrierung der Sauerstoffsonde

Watte aus Baumwolle

Quarzsand F36 (Quarzwerke GmbH Frechen, Deutschland)

pH-Meter z.B. WTW 526 mit Elektrode z.B. Blue Line 23pH

Sauerstoff-Messgerät mit Thermometer PreSens Microx mit Sauerstoffsensoren z.B. TX3

<sup>1</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009

<sup>2</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 4 von 18

Entwurf

Gültig ab:

El. Leitfähigkeits-Messgerät mit Sensor z.B. WTW InoLab Cond Level 2<sup>3</sup>  
Inversmikroskop  
Kaltlichtquelle  
Binokular  
Horizontalschüttler  
Kühlinkubator  
24-Well-Zellkulturplatte (ohne Beschichtung) für die Auswertung  
Edelstahlsieb  
div. Aquarien mit Laichschalen, Kunstpflanzen, Futterautomaten und Außenfilter  
20 ml Kristallisierschalen, oder TC Testplatte mit 6 Wells z.B. Renner GmbH Nr. 38040  
(Zellkulturplatten aus Polystyrol)  
Parafilm (für Kristallisierschalen)  
Pipette mit 500-2500 µl und Pipettenspitzen  
Einweg-Plastikpipette  
Messkolben und Messzylinder 1 ml, 10 ml, 100 ml  
Aktivkohlepatrone und Kupfer-Ionen-Austauscher  
Salz für Artemienzucht (normales handelsübliches Speisesalz oder Meersalz)  
Verschiedene Glasware und Spatel  
Teststäbchen für Ammonium, Nitrit, Nitrat und Wasserhärte zur Überprüfung der  
Hälterungsaquarien (siehe Kap. 9)  
Labortagebuch  
**Waage Sartorius universal 20048**

<sup>3</sup> Der hier aufgeführte Sensor sollte durch eine Mikrosonde ersetzt werden.

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 5 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### 4 Probenahme, Probenkonservierung, Probenlagerung

#### 4.1 Gefriertrocknung<sup>4</sup>

Die Gefriertrocknung wird nach SOP HU412.012 durchgeführt.

##### Sedimente:

Überstehendes Wasser wird abdekantiert.

##### Schwebstoffproben:

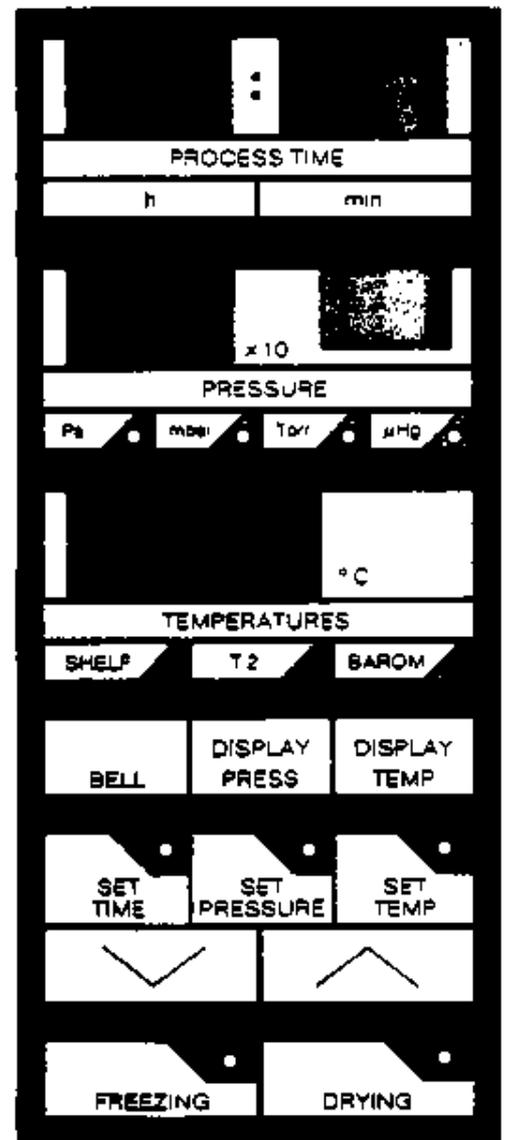
Überstehendes Wasser wird abdekantiert. Die Probe wird durch Rühren homogenisiert.

Abhängig von der weiteren geplanten Bearbeitung der Proben bzw. den zu bestimmenden Parametern werden unterschiedliche Gefäße für die Trocknung verwendet. In jedem Fall werden die Gefäße mit der Tagebuchnummer der jeweiligen Probe beschriftet.

Probe in die Edelstahlschale bis ca. 1 cm unter dem oberen Rand einfüllen, diese mit dem Sieb abdecken, um ein Verspritzen oder Verwirbeln der Proben im Trocknungsraum zu vermeiden (blauen Gummiring nicht vergessen).

Damit beim Fischei-Sedimentkontakttest wieder die gleiche Menge an Flüssigkeit zugeführt wird, wie durch die Trocknung verloren geht, wird die Trockensubstanz bestimmt. Dazu wird die leere Schale mit Sieb ( $m_a$ ) und die Probe mit Schale und Sieb ( $m_b$ ) vor dem Trocknen gewogen und das Gewicht notiert.

Die Proben müssen vor der Trocknung auf mindestens -35 °C heruntergekühlt werden (Tiefkühlschrank), da die Proben sonst in der Gefriertrocknungsanlage verspritzen.



<sup>4</sup> Quelle: SOP H22.012 -02 vom 15.02.2005

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 6 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### Anlage: Amsco Finn Aqua, Lyovac GT2

#### Einstellungen:

Die Pumpe wird immer mit Gasballast betrieben (Hebel an der Vorderseite auf „Gasballast“). Die Temperatur der Stellplatten soll immer auf -35 °C eingestellt sein (Überprüfung: <Display Temp> drücken, bis LED neben „Shelf“ leuchtet, dann <Set Temp> drücken). Die voreingestellte Temperatur wird blinkend angezeigt.

#### Vorbereitung der Gefriertrocknungsanlage:

Die Gefriertrocknungsanlage besitzt keinen Netzschalter, bleibt also immer im Standbybetrieb. Der Netzschalter der Pumpe bleibt immer eingeschaltet, die Pumpe wird über die Anlagenregelung gesteuert.

Vor dem Einsetzen der Proben muss die Vakuumpumpe ca. eine halbe Stunde warmlaufen und die Kühlschlangen müssen vorgekühlt werden:

Das Druckventil wird geschlossen, indem <Set Pressure> gedrückt (die „Pressure“-Anzeige blinkt) und mit den Pfeiltasten „A“ gewählt wird (liegt in der Liste unter dem niedrigsten Druck). Dann wird noch einmal <Set Pressure> gedrückt, die Anzeige wird konstant. Nun werden mit der Taste <Drying> die Pumpe und die Kältemaschine eingeschaltet.

Die Stellflächen für die Schalen werden bei Nichtgebrauch im Gefrierschrank gelagert und erst in das Gerät eingesetzt, wenn die Proben getrocknet werden sollen.

#### Dichtigkeitstest:

*Der Dichtigkeitstest ist sehr wichtig, da von ihm abhängt, ob der Trocknungserfolg über den Druck kontrolliert werden kann!*

Vor dem Test ist zu prüfen, ob noch Kondensat am Boden der Kühlkammer vorhanden ist. Dies muss über das Ablaufventil und/oder durch Auswischen entfernt werden.

Um die Dichtigkeit der Anlage zu prüfen, setzt man die Abdeckhaube auf, schließt Ablauf- und Belüftungsventil. Die Lochplatte zum Trennen von Kühlkammer und Trockenkammer wird mit dem Magnetschieber geöffnet.

Dann stellt man mit <Set Pressure> den Druck auf  $1 \times 10^{-3}$  mbar ein (Einheit beachten! Die LED neben „mbar“ muss leuchten).

Nach ca. einer halben Stunde sollte der Druck im Bereich  $10^{-2}$  mbar liegen. Ist das nicht der Fall, so sollte eine Fehlerüberprüfung vorgenommen werden (sonst: siehe SOP H22.012 -02 vom 15.02.2005).

Liegt der Druck im gewünschten Bereich, so schließt man mit dem Magnetschieber die Lochplatte. Der Druck sollte in den nächsten fünf Minuten nur unwesentlich ansteigen und unter  $10^{-1}$  mbar bleiben (sonst: siehe SOP H22.012 -02 vom 15.02.2005).

Danach wird die Anlage belüftet und die Abdeckhaube abgenommen

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 7 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### Gefriertrocknung:

Die tiefgefrorenen Proben und die Stellflächen werden aus dem Gefrierschrank genommen, die Stellflächen werden in das Gestell eingesetzt und die Stecker für die Heizung angeschlossen. In eine der Stellflächen wird der Temperaturfühler zusammen mit etwas Wärmeleitpaste gesteckt.

Nun wird die Abdeckhaube aufgesetzt. Das Belüftungsventil und das Kondensatablaufventil werden geschlossen. Dann wird mit <Set Pressure> (s.o.) der Druck auf  $1 \times 10^{-2}$  mbar eingestellt. Das Druckventil öffnet sich hörbar. In der Druckanzeige erscheint die Meldung „PU“, bis ein Druck von weniger als 20 mbar erreicht wird. Dies muss innerhalb der nächsten 15 Minuten geschehen, anderenfalls gibt es ein Leck im System oder die Probe ist nicht ausreichend eingefroren worden, sodass sie bereits wieder angetaut ist.

### Beenden der Gefriertrocknung:

Zur Überprüfung des Trocknungserfolgs schließt man die Lochplatte zwischen Kühl- und Trockenkammer. Steigt der Druck innerhalb der nächsten fünf Minuten nicht an, so ist die Trocknung abgeschlossen. Anderenfalls muss weiter getrocknet werden.

Die Gefriertrocknungsanlage wird mit der Taste <Drying> ausgeschaltet. Dann wird belüftet. Nach dem Abtauen der Kühlschlange wird das Kondensatwasser abgelassen.

Die Proben werden entnommen und erneut mit Schale und Sieb gewogen ( $m_c$ ). Die Probe wird anschließend über ein 2 mm Sieb gesiebt und in eine geeignete Flasche gefüllt (Flasche mit der Tagebuchnummer beschriftet). Bis zur Verwendung sind die Probeflaschen dunkel und kühl im Kühlschrank zu lagern.

### **4.2 Trockenrückstand berechnen**

Der Trockenrückstand wird nach folgender Formel berechnet:<sup>5</sup>

Formel in Prozent:

$$T_{RS} [\%] = \frac{(m_c - m_a)}{(m_b - m_a)} * 100$$

Einwaage vor Trocknung

$m_b$

Einwaage nach Trocknung

$m_c$

Damit wird ausgerechnet wie viel Verdünnungswasser in das jeweilige Sediment gegeben wird.

<sup>5</sup> Quelle: Mündliche Mitteilung DanTox Symposium 2013, RWTH Aachen

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 8 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### 4.3 Quarzsand testen

Jede neue Charge Quarzsand muss auf schädigende Wirkung getestet werden. Dazu wird der neue Quarzsand als Probe getestet. Ist der Test unauffällig, kann der Quarzsand ohne weitere Behandlung verwendet werden. Sollten Effekte auftreten, muss der Quarzsand gewaschen und noch einmal getestet werden.

Zum Waschen des Quarzsandes werden ungefähr 50 g Quarzsand in einen Erlenmeyerkolben gegeben und mit ca. 200 ml bidestilliertem Wasser 2 min lang geschüttelt. Anschließend erfolgen die vorsichtige Abdenkantierung des Wassers und die Wiederholung des Waschvorgangs. Danach wird der Quarzsand abgefiltert, in eine Abdampfschale überführt und das restliche Wasser über Nacht in einem Trockenschrank bei 110 °C verdampft.

### 5 Ansetzen, Lagerung und Handhabung der Standardlösungen und Reagenzien<sup>6</sup>

Alle Lösungen und Chemikalien, deren Haltbarkeit begrenzt ist, sind auf dem Gebinde mit dem Haltbarkeitsdatum zu versehen, sofern das gültige Haltbarkeitsdatum nicht vom Hersteller aufgedruckt ist.

Zusammensetzung des Verdünnungswassers:

294,0 mg/L  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$

123,3 mg/L  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$

63,0 mg/L  $\text{NaHCO}_3$

5,5 mg/L KCl

Vor Verwendung bis zur Sauerstoffsättigung (entspricht etwa 8 mg/L  $\text{O}_2$ ) belüften (ca. 24 Stunden) und auf 26 +/- 1°C temperieren. Das Verdünnungswasser wird mit deionisiertem Wasser hergestellt.

Herstellung der 3,4-Dichloranilin Stammlösung

0,05 g Dichloranilin in 500ml Verdünnungswasser 24h rühren, pH-Wert auf 7,0 einstellen.

Die Stammlösungen sind lichtgeschützt im Kühlschrank bis zu sechs Monate verwendbar.

<sup>6</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 9 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### Herstellung der Kalibrierlösung für die Sauerstoffsonde MICROX TX3

Für die zwei-Punkt Kalibrierung ist eine Sauerstoff-freie Lösung (cal 0) und eine Sauerstoff-gesättigte Umgebung (cal 100) herzustellen: 1 g von  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  in ein verschließbares Gefäß geben und in 100 mL Wasser lösen. Den Deckel schließen und für eine Minute schütteln, damit sich das  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  löst und das Wasser sauerstofffrei wird. Bis zur Kalibrierung sollte das Gefäß verschlossen bleiben, um eine Sauerstoff-Kontaminierung zu minimieren. Das Gefäß mit Haltbarkeitsdatum und „cal 0“ beschriften.

In ein zweites Gefäß wird nasse Baumwoll-Watte gefüllt und dieses mit „cal 100“ beschriftet. Zwei Löcher müssen in den Deckel gebohrt werden, damit der Mikrosensor und der Temperatursensor hindurch passen.

## 6 Hälterung und Zucht <sup>7</sup>

Die Zebrabärblinge können bezogen werden bei:

Umweltbundesamt

FG III 3.4 "Überwachungsverfahren Abwasser, Labor"

Dienstgebäude Marienfelde, Schichauweg 58, D - 12307 Berlin

Die Fische können dann im Labor weiter gezüchtet werden. Für die Eigewinnung werden nur Fische verwendet, die zwischen sechs und 24 Monate alt sind. Es werden jeweils acht Männchen und vier Weibchen in einem Aquarium gehalten. Als Hälterungs- und Zuchtwasser wird Leitungswasser verwendet, das über eine Aktivkohlepatrone und einen Kupfer-Ionen-Austauscher gelaufen ist. Die Fische werden mehrmals werktäglich in kleineren Mengen mit selbstgezüchteten Artemien, Trockenfutter und ggf. gefrorenen oder lebenden Mückenlarven oder anderen im Laborhandel erhältlichen Organismen gefüttert. Am Wochenende wird mittels Futterautomat mit Trockenfutter gefüttert. Die Artemieneier werden im Kühlschrank (Raum 334), gefrorene Mückenlarven im Gefrierfach (Raum 334) gelagert.

Die Aquarien werden wöchentlich gereinigt.

Die Aquarien (auch die Becken für die Nachzucht) sind durchnummeriert. Es wird ein detailliertes Bestandsbuch mit Angaben zum Zugang und Verbleib der Tiere geführt (bei HU41133).

<sup>7</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 10 von 18

Entwurf

Gültig ab:

Die Wassertemperatur wird kontinuierlich in einem Aquarium mit einem Datalogger aufgezeichnet. Der Nitrit-, Nitrat- und Ammoniumgehalt wird wöchentlich in allen Aquarien bestimmt. pH-Wert und Sauerstoffgehalt werden zweimal wöchentlich gemessen. Da die Wasserhärte nur geringen Schwankungen unterliegt, reicht hier eine monatliche Messung aus. Die Dokumentation aller Messwerte erfolgt auf dem Formular SOP HU411.105-03\_F01-02 (siehe auch Kapitel 9).

Unmittelbar nach Einschalten des Lichts werden die Laichschalen in die Aquarien gesetzt. Die Eiablage erfolgt nach unseren Beobachtungen dann etwa nach zwei Stunden (Abweichung von DIN). Danach werden die Laichschalen entnommen und die Fische erst anschließend gefüttert.

Beim Teilwasserwechsel sollte die ausgetauschte Wassermenge nicht zu groß sein, um größere Schwankungen speziell der Wassertemperatur zu vermeiden. Ansonsten kann das Austauschwasser zuvor an die Zimmertemperatur angeglichen werden.

### **7 Sauerstoffmessung**

#### **7.1 Kalibrierung der Sonde MICROX TX3**

Die Kalibrierung der Sauerstoffsonde erfolgt durch eine Zwei-Punkt-Kalibrierung. Dazu werden der Transport-Blockierungs-Stift und die Schutzkappe der Sonde entfernt. Im Menü wird die gewünschte Kalibrierung ausgewählt und ein Druck von 1018 mbar eingegeben. Es muss sichergestellt werden, dass sich die beiden Sensoren nicht berühren. Zuerst werden beide Sensoren in die Lösung mit „cal 0“ getaucht. Der Sauerstoffsensor ist noch nicht ausgefahren, die Nadel soll sich circa 5 mm über der Wasseroberfläche befinden, dann wird vorsichtig die Nadel herausgefahren, bis diese etwa 4 mm in die Kalibrierlösung eintaucht. Lediglich der Sensor und nicht die schützende Nadel dürfen eintauchen! Der Temperatursensor wird 1 bis 2 cm in die Lösung eingetaucht.

Sollte die Nadel versehentlich in die Lösung eingetaucht worden sein, wird sie mit destilliertem Wasser gespült, um eine Salzkristallisierung zu vermeiden. Nach 30 Sekunden sollten der Phasenwinkel und die Temperatur konstant bleiben und nur um  $\pm 0,05^\circ$  und  $0,2^\circ\text{C}$  variieren. Mit „Store current value“ wird der Wert für den „0 % air-sat.“ und „temp. At 0%“ gespeichert. Der Sensor wird vorsichtig wieder in die Nadel eingefahren.

Die Sensoren werden mit destilliertem Wasser gewaschen, um das Natriumsulfit zu entfernen.

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 11 von 18

Entwurf

Gültig ab:

Die Sensoren werden über das Gefäß „cal 100“ platziert, sodass der Sauerstoff-Temperatursensor durch die beiden Löcher geführt werden kann. Der Glasfibersensor in der Sauerstoffnadel darf noch nicht ausgefahren sein! Beide Sensoren sind circa 1 cm im Gefäß und dürfen sich nicht berühren. Der Sauerstoffsensor wird vorsichtig aus der Nadel gefahren und nach 30 Sekunden sollten der Phasenwinkel und die Temperatur konstant bleiben und nur um  $\pm 0,05^\circ$  und  $0,2^\circ\text{C}$  variieren. Mit „Store current value“ wird der Wert für den „100 % air-sat.“ und „temp. At 100%“ gespeichert. Der Sensor wird wieder in die Nadel eingefahren.

Mit „continue“ und „finish“ werden die Werte gespeichert und die Kalibrierung beendet. Die Schutzhülle und der Transport-Blockierungs-Stift werden bis zur Messung aufgesetzt.

### 7.2 Sauerstoffmessung

Jedes neue und unbekanntes Sediment und jede Schwebstoffprobe müssen vor ihrer Verwendung im Fischei-Sedimentkontakttest auf ihre Sauerstoffzehrung untersucht werden.

Dazu wird der Verlauf der Sauerstoffkonzentration direkt über dem Sediment mit der Mikrosonde über 48 Stunden beobachtet.

## 8 Proben- und Testvorbereitung

Probenvorbereitung:

Tag vor der Eiablage:

Die Kontroll- und Sedimentproben werden 24 Stunden vor dem tatsächlichen Versuchsbeginn vorbereitet. Dafür werden entweder 6-Well-Platten oder 20 ml Kristallierschalen verwendet. Dabei sind die Glasschalen zu bevorzugen, da an diesen die Adhäsion und damit der Verlust organischer Substanzen reduziert werden. Die Nachteile der Kristallierschalen sind, dass bei Proben mit möglichen vorhandenen Schwermetallen diese überproportional an das Glas sorbieren.

Es werden je 3 g Quarzsand in insgesamt acht Schalen eingewogen. Dabei werden vier der acht Schalen für die Quarznegativkontrollen und vier Schalen für die Quarzpositivkontrollen verwendet. Für die Genauigkeit der Einwaage hat sich ein Wert von 1% als sinnvoll herausgestellt ( $3,00 \pm 0,03$  g). In die Schalen werden dann jeweils 4 ml Verdünnungswasser gegeben. Die Zugabe der 3,4-Dichloranilin-Lösung erfolgt für die Positivkontrollen des Quarzsands und der wässrigen Positivkontrollen erst am nächsten Tag.

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 12 von 18

Entwurf

Gültig ab:

Die wässrigen Kontrollen werden in vier Negativkontrollen und vier Positivkontrollen aufgeteilt. Dafür werden je 4 ml Verdünnungswasser in die acht Schalen gegeben.

Wie bei allen Kontrollen werden auch 3 g Sediment in die 4 Schalen der Sedimentproben eingewogen und mit Verdünnungswasser versetzt. Je nach berechnetem Trockenrückstand wird so viel Verdünnungswasser pipettiert, dass zusätzlich 2 ml zu dem ursprünglichen Wassergehalt hinzugegeben werden. Für eine Vorinkubation werden die Proben für 24 Stunden auf den Horizontalschüttler gestellt.

Anschließend werden alle Kontroll- und Probenschalen mit Parafilm verschlossen und über Nacht im Kühlinkubator bei 26°C auf einem Horizontalschüttler bei 80 rpm geschüttelt, um eine ausreichende Sauerstoffsättigung zu gewährleisten.

### Tag der Eiablage (Versuchstag):

Am Versuchstag müssen vor der Eiauswahl noch die Positivkontrollen vorbereitet werden.

Die Positivkontrollen werden mit 185 µl 3,4-Dichloranilin-Lösung (100 mg/L) versetzt. Die 3,4-Dichloranilin-Konzentration beträgt 3,7 mg/L. Dies entspricht dem LC<sub>70</sub>-Wert von Fischeiern mit 3,4-Dichloranilin. Praktisch sollte die Mortalität jedoch zwischen 20% und 90% liegen. Bei den Quarzsandpositivkontrollen werden jedoch aufgrund der Bindung an die Quarzpartikel niedrigere Werte beobachtet.

### Eigewinnung und Testaufbau

Die Laichschalen werden am Nachmittag vor dem Versuch in die Aquarien gestellt und dann am nächsten Morgen herausgenommen. Die Eier sind als kleine weißlich-hyaline Kügelchen zu erkennen. Unter dem Bino wird geprüft, ob mindestens 50 % der Eier befruchtet sind. Befruchtete Eier sind daran zu erkennen, dass im Ei erste Zellen ausgebildet sind (die erste Zellteilung erfolgt bei 26 °C etwa 15 min nach der Befruchtung).<sup>8</sup> Es ist sicherzustellen, dass sich die befruchteten Eier in einem Zellstadium zwischen 4 und 128 Zellen befinden.

Die Eier werden mit dem Sieblöffel in eine 100 ml Kristallierschale, die mit Verdünnungswasser gefüllt ist, überführt. Von dort werden jeweils fünf Eier mit einer 5 ml-Eppendorfpipette und einem Volumen von 1 ml in eines der Probenschalen (Sedimentproben und Negativkontrollen) überführt. Bei den Positivkontrollen werden je fünf Eier in 815 µl überführt. Die Sauerstoffkonzentration wird im Überstandswasser der Proben gemessen. Die Schalen werden anschließend mit Parafilm verschlossen und bleiben für 48 h bei 26 °C Temperatur (+/- 1 °C) unter konstanten Bewegungen bei 80 rpm im Kühlinkubator.

<sup>8</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 13 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### Messung der Sauerstoffkonzentration

Zu Testbeginn nach 24 Stunden Vorinkubation und nach 48 Stunden wird im Überstandswasser der Sedimentproben auf Höhe der liegenden Eier der Sauerstoffgehalt gemessen und notiert. Um Effekte durch stark sauerstoffzehrende Sedimente auf die Entwicklung der Fischeier auszuschließen, sollte über den Testzeitraum eine Mindestkonzentration von 4 mg/L O<sub>2</sub><sup>9</sup> gewährleistet sein

### Messung der abiotischen Parameter

Es sind die el. Leitfähigkeit, der pH-Wert und der Sauerstoffgehalt nach 48 h in allen Kontroll- und Sedimentproben zu messen.

## 9 Messung, Auswertung, Ergebnisse, Dokumentation<sup>10</sup>

Nach 48 h wird der Sauerstoffgehalt im Überstandswasser der Proben kontrolliert und im Protokoll notiert. Die Embryonen werden unter Beleuchtung mit einer Kaltlichtquelle mit einer 5 ml Pipette vom Sediment gesammelt. Dabei können die fünf Eier gemeinsam überführt werden. Die Eier werden anschließend zur Auswertung auf eine 24-Wellplatte überführt. Mit dem Inversmikroskop wird jedes Ei auf seinen Entwicklungsstand untersucht. Dieser wird auf dem Testprotokoll protokolliert. Neben den letalen Endpunkten werden auch subletale in die Bewertung mit einbezogen. Es muss zukünftig geklärt werden, wie nicht wiedergefundene Eier in der Toxizitätsberechnung verrechnet werden. Werden fehlende als „tot“ verrechnet, wird der Vorsorgegedanke bewahrt und die Manipulationsgefahr minimieren. So wird gefordert, alle eingesetzten Eier wiederzufinden. Gleichzeitig kann ein unerfahrener Bearbeiter die Toxizität beeinflussen. Im Protokoll wird die Anzahl an eingesetzten, fehlenden und toten Eiern dokumentiert.

<sup>9</sup> Quelle: DIN: Deutsches Institut für Normung DIN EN ISO 15088:2008 (E.K. Normung, Hrsg.) Normausschuss Wasserwesen (NAW). Seite 5,9,11,12. "Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (*Danio rerio*).", 2009

<sup>10</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 14 von 18

Entwurf

Gültig ab:

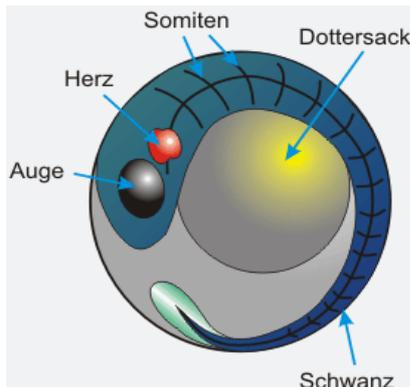


Abbildung 0.1 Schematischer Aufbau eines Fischembryos Embryo nach 48 Stunden



Abbildung 0.2 koaguliertes Ei (links), keine Schwanzablösung (rechts)

Auf dem Testprotokoll wird für jedes einzelne Ei der Zustand protokolliert. Hierfür werden folgende Kürzel verwendet:

N = normal entwickelter Keim

K = koagulierter Keim (letal)

S = keine Schwanzablösung (letal)

H = kein Herzschlag (letal)

Subletale Effekte können auftreten durch:

Keine Spontanbewegung

Fehlen der Pigmentierung/Augenanlagen

Verlangsamter Herzschlag/Blutkreislauf

Ödeme

Missbildungen/Wirbelsäulendeformationen

Unterentwicklung

Anschließend wird die Summe der toten Embryonen ermittelt.

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 15 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### Gültigkeitskriterien:

Der Test wird als gültig gewertet, wenn mindestens 90 % der Embryonen in der externen Kontrollgruppe überleben und in der Positivkontrolle mit 3,7 mg/L 3,4-Dichloranilin ein Effekt größer als 10 % auftritt, also mindestens zwei tote Embryonen festgestellt werden.

### Auswertung:

**Verdünnungsreihen mit Quarzsand oder Verdünnungswasser<sup>11</sup>**

**Angelehnt an DIN EN ISO 15088 – T6 wird eine Probe als nicht toxisch eingestuft, wenn sich mindestens 90 % der Embryonen normal entwickeln.**

### Dokumentation:

Die Angaben zur Probe und der Probenvorbereitung (pH-Wert, el. Leitfähigkeit und Sauerstoffgehalt) sowie die Testdurchführung werden auf dem Testprotokoll dokumentiert. Für jede untersuchte Probe wird ein Testprotokoll erstellt.

## **10 Qualitätssicherungsmaßnahmen<sup>12</sup>**

Zu jedem Test ist eine interne und externe Kontrolle sowie eine festgelegte Konzentration mit der Referenzsubstanz 3,4-Dichloranilin mitzuführen.

Einmal jährlich muss das Zuchtwasser überprüft werden (Leitungswasser vor und nach Aktivkohlepatrone und Cu-Ionen-Austauscher), um eine erhöhte Belastung der Zuchtfische speziell mit Metallen ausschließen zu können.

Ferner wird ein Tagebuch geführt, in dem Angaben zur Eiablage, Fütterung und Besonderheiten notiert werden.

Die wasserchemischen Überprüfungen der Aquarien werden mit Merckoquant-Teststäbchen durchgeführt (Lagerung im Kühlschrank Raum 334 bzw. in Raum 325). Es sollten folgende Werte eingehalten werden:

<sup>11</sup> Wie bei Biotests üblich sollten auch der Sedimentkontakttest in Zukunft mit Verdünnungsreihen durchgeführt werden. Hierzu sollten in Zukunft Versuchsreihen durchgeführt werden.

<sup>12</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009

## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 16 von 18

Entwurf

Gültig ab:

**Nitrat:** empfohlen 20 mg/L, maximal 100 mg/L (Messung ein Mal pro Woche)

**Nitrit:** empfohlen 0,1 mg/L, maximal 1 mg/L (Messung ein Mal pro Woche)

**Ammoniak** in Abhängigkeit vom pH-Wert: der Ammoniak-Gehalt sollte 0,025 mg/L nicht übersteigen, d.h. **Ammonium** darf mit den Teststäbchen nicht nachweisbar sein (Messung ein Mal pro Woche).

Sollten die empfohlenen Werte überschritten werden, ist umgehend ein Teilwasserwechsel vorzunehmen.

Darüber hinaus wird auch die **Wasserhärte** monatlich, der **pH-Wert** und der **Sauerstoffgehalt** zwei Mal pro Woche ermittelt. Die **Wassertemperatur** wird kontinuierlich in einem Aquarium mit einem Datalogger aufgezeichnet.

Die erhobenen Werte werden im Protokoll SOP HU411.105-03\_F01-02 dokumentiert.

### 11 Gerätewartung, Wartungsintervalle<sup>13</sup>

Das verwendete pH-Meter muss vor jeder Verwendung kalibriert werden (s. SOP HU412.042 Bestimmung des pH-Wertes in Wasserproben). Jede Kalibrierung ist im Gerätebuch für das pH-Meter zu dokumentieren.

Der Sauerstoffgehalt im Überstandswasser ist zu bestimmen. Hierzu muss zuvor das Messgerät intern kalibriert werden.

### 12 Hinweise zur Fehlersuche<sup>14</sup>

Fehler: nur geringe oder keine Eiproduktion oder Mortalität in der Zucht.  
mögliche Ursachen:

1. Futter unzureichend.
2. Zuchtwasser belastet. Abhilfe: Zuchtwasser analysieren, ggf. Ionen-Austauscher erneuern.
3. Verunreinigung der Aquarien oder Krankheiten. Abhilfe: komplette Reinigung ggf. neue Fische beschaffen.

<sup>13</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009

<sup>14</sup> Quelle: SOP HU411.105-Version 03 vom 07.12.2009



## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 17 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### 13 Entsorgung von Proben, Reagenzien und Standards

Das Sediment und der Quarzsand aus der Negativkontrolle werden in das Weck-Glas „Abfall Sediment“ und der Quarzsand der Positivkontrolle in das Weck-Glas „Abfall Sediment DCA“ überführt.

### 14 Reinigung der Glaswaren (Kristallisierschalen)<sup>15</sup>

Nach dem Gebrauch der Kristallisierschalen toxische Wässer und Sedimente fachgerecht entsorgen und mit Aqua Dest nachspülen.

Die Kristallisierschalen durchlaufen folgendes Spülprogramm:

1. Spülen mit Spülmittel
2. Säurebad (3% HCL) über Nacht
3. Spülen ohne Spülmittel (Aqua Dest)
4. Trockenschrank (60°C) 20-30min

<sup>15</sup> Quelle: DIN EN ISO 5667-16 / L1 / 6.3 Reinigung der Geräte / Seite 12



## Qualitätsmanagementhandbuch HU4

SOP

Fischei-Sedimentkontakttest

Seite 18 von 18

Entwurf

Gültig ab:

### 15 Liste der Änderungen

Änderung	Datum	Namenszeichen wiss. Betreuung

**Versuchsprotokoll**

Versuch		Datum
Eiablage		Uhr
Versuchsbeginn		Datum
Testbeginn		Uhr
Befruchtungsrate		%

		Effekte bei den Embryonen nach 48h					pH-Verdünnungswasser eingestellt auf O <sub>2</sub> -Gehalt des Verdünnungswassers mg/L			
Probenbezeichnung	Einwaage in g	1	2	3	4	5	Anzahl Tote/ Anzahl fehlende Eier / Anzahl eingesetzte Eier	Mortalität	O <sub>2</sub> [mg/L] Start	O <sub>2</sub> [mg/L] Ende
wässrig, Positivkontrolle 1	-									
wässrig, Positivkontrolle 2	-									
wässrig, Positivkontrolle 3	-									
wässrig, Positivkontrolle 4	-							%		
Quarz, Positivkontrolle 1										
Quarz, Positivkontrolle 2										
Quarz, Positivkontrolle 3										
Quarz, Positivkontrolle 4								%		
wässrig, Negativkontrolle 1	-									
wässrig, Negativkontrolle 2	-									
wässrig, Negativkontrolle 3	-									
wässrig, Negativkontrolle 4	-							%		
Quarz, Negativkontrolle 1										
Quarz, Negativkontrolle 2										
Quarz, Negativkontrolle 3										
Quarz, Negativkontrolle 4								%		
Probe 1										
Probe 2										
Probe 3										
Probe 4								%		